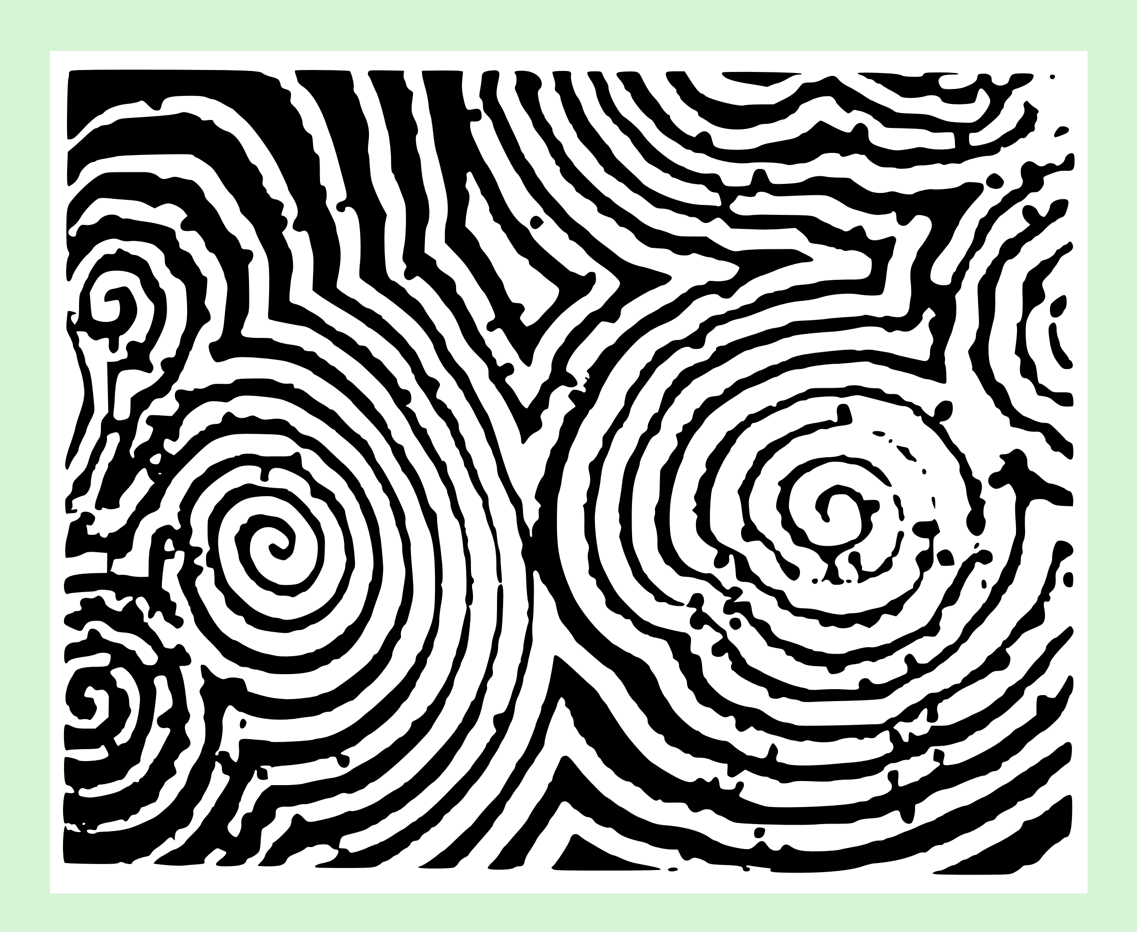
M. Volkenstein

BIO-PHYSIQUE



Éditions Mir Moscou

М. В. ВОЛЬКЕНШТЕЙН

БИОФИЗИКА

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»
МОСКВА

M. VOLKENST.

BIOPHYSIQUE

ÉDITIONS MIR · MOSCOU

Traduit du russe
par E. OUMANSKI

На французском языке

PRÉFACE

Ce livre est destiné aux étudiants, ainsi qu'à ceux qui ont déjà terminé l'Université : aux biologistes et aux physiciens étudiant la biophysique. Il est issu du cours, dont l'auteur est chargé depuis bien des années à l'Institut physico-technique de Moscou, et de deux monographies parues antérieurement. La première de ces monographies, « Biophysique moléculaire », a été éditée en russe (1975) et en anglais (Academic Press, 1977). La seconde, « Biophysique générale », est également parue en deux langues : la version russe en 1978 et la traduction anglaise en 1983 (également chez Academic Press). Le texte du présent livre est nouveau. Par ailleurs, les deux monographies précitées sont recommandées à ceux qui aimeraient approfondir leurs connaissances. On y trouve une abondante bibliographie.

A mon avis, la biophysique n'est pas une branche accessoire de la biologie, mais une partie légitime de la physique : c'est la physique de la Nature vivante. Voilà pourquoi j'ai tenu à faire la distinction entre la biophysique et la physiologie, bien que ces deux disciplines possèdent beaucoup de points communs. Le livre est essentiellement consacré aux problèmes théoriques de la biophysique, mais les faits expérimentaux les plus importants y ont trouvé leur place.

La présente édition comporte des suppléments et des modifications par rapport aux versions russe et anglaise parues auparavant ; il y a, notamment, deux nouveaux paragraphes relatifs à la topologie des ADN et à la réception acoustique.

Je me rends parfaitement compte des difficultés que rencontre un auteur qui veut écrire un cours encyclopédique de biophysique.

La biophysique d'aujourd'hui est un domaine des sciences naturelles très vaste, complexe et varié; un spécialiste ne peut connaître également bien tous ses problèmes. Cela se traduit inévitablement par certains défauts de l'exposé. Je serais donc reconnaissant aux lecteurs de toutes leurs suggestions et critiques.

M. Volkenstein

CHAPITRE PREMIER

BUTS ET MÉTHODES DE LA BIOPHYSIQUE

§ 1.1. Situation de la biophysique parmi les sciences naturelles

Nous prendrons pour le point le départ la définition selon laquelle la physique a pour objet d'étude la structure et les propriétés des formes concrètes de la matière (substances et champs), ainsi que les formes de l'existence de la matière (l'espace et le temps). On n'y trouve aucune distinction entre la vie organique et la matière inanimée. Cette définition ne vise pas à ramener toutes les sciences naturelles à la physique, mais elle montre que les bases théoriques de toute science traitant de la nature ont, au bout du compte, un caractère physique. Cela a été démontré pour la chimie : nous savons aujourd'hui que la chimie étudie la structure et les modifications des couches électroniques des atomes et des molécules en interaction. Actuellement, la chimie théorique est entièrement fondée sur la mécanique quantique et statistique, sur la thermodynamique et la cinétique physique.

L'objet de la biologie est la vie organique dont les formes sont beaucoup plus complexes que celles de la matière inanimée. Il y a donc encore un bien long chemin à parcourir avant de pouvoir découvrir d'une façon plus ou moins complète les fondements physiques profonds des phénomènes et des lois biologiques.

Nous définirons donc la physique biologique comme la physique des phénomènes vitaux qu'elle étudie à tous les niveaux, des molécules et des cellules à la biosphère entière. Une telle définition de la biophysique va à l'encontre de sa présentation en tant qu'un domaine annexe de la biologie ou de la physiologie. Le contenu de la biophysique n'est pas nécessairement lié à l'utilisation des appareils physiques dans les expériences biologiques. Le thermomètre de médecin, l'électrocardiographe, le microscope sont des appareils physiques, mais le médecin ou le biologiste qui s'en sert n'est pas pour autant un biophysicien. Une étude biophysique suppose qu'un problème relatif à la vie organique soit posé en termes de physique. Cela veut dire qu'on le formulera en partant des lois générales de la physique et de la structure atomique et moléculaire des corps.

Ainsi, le but final de la biophysique consiste à fournir un fonde-

ment théorique à la biologie. Parallèlement, la biophysique résout une multitude de problèmes théoriques et appliqués d'un ordre moins général.

Rares sont encore les cas où il est possible de formuler un problème biophysique. La complexité des êtres vivants est telle que les connaissances biologiques s'avèrent, le plus souvent, insuffisantes pour réaliser une approche physique. Mais la biologie progresse rapidement; son évolution actuelle est indissolublement liée au développement de la biophysique.

La biophysique est une science du XXe siècle. Cela ne veut pas dire que personne ne s'intéressa aux problèmes biophysiques avant notre siècle. Maxwell élabora sa théorie de la vision des couleurs, Helmholtz mesura la vitesse de propagation de l'impulsion nerveuse. On pourrait citer un bon nombre d'exemples de ce genre. Pourtant, c'est seulement de nos jours que la biophysique qui s'occupait jusqu'alors de l'étude des propriétés physiques des organismes et des effets physiques exercés sur eux (lumière, son, électricité), a abordé les problèmes fondamentaux: étude de l'hérédité et de la variabilité, de l'ontogénèse et de la phylogénèse, du métabolisme et de la bioénergétique. Cela n'a été possible que grâce au développement puissant de la biologie et de la biochimie.

La biophysique a la même tâche que la biologie. Cette tâche commune consiste à parvenir à connaître les phénomènes vitaux. Tout en restant une partie de la physique, la biophysique est indissoluble de la biologie. Un biophysicien doit posséder à la fois des connaissances physiques et biologiques. Pour bien œuvrer dans le domaine de la biophysique, il faut avoir une bonne conception générale de la nature vivante, qui suppose la connaissance des principes de zoologie et de botanique, de physiologie et d'écologie. Les physiciens négligent trop souvent le côté descriptif de la biologie. Or, la zoologie et la botanique sont fondamentalement nécessaires: la théorie de Darwin aurait été impossible sans Linné.

Malgré toutes les difficultés, la biophysique moderne a à son actif des réalisations importantes dans l'explication de quelques phénomènes biologiques. On a appris beaucoup de choses sur la structure et les propriétés des molécules biologiquement fonctionnelles, sur les propriétés et les mécanismes d'action de certaines structures cellulaires, telles que membranes, organites bioénergétiques, systèmes mécanochimiques. On élabore avec succès des modèles physico-mathématiques de processus biologiques, jusqu'à l'ontogénèse et la phylogénèse. On a réalisé des conceptions théoriques des phénomènes vitaux sur la base de la thermodynamique, de la théorie de l'information, de la théorie des asservissements. Nous traiterons ici toutes ces questions de façon plus ou moins détaillée. En le faisant, nous partirons non pas de la classification physiologique, mais des corrélations physiques, en conformité avec la conception de la biophysique

comme physique des phénomènes vitaux. Ainsi, la réception des effets extérieurs par les organes des sens sera traitée dans différents chapitres du livre: la vision dans le chapitre consacré aux phénomènes photobiologiques, l'audition et le tact à l'occasion des processus mécanochimiques, l'olfaction là où il s'agira de la physique de la reconnaissance moléculaire.

§ 1.2. Physique et biologie

Est-ce que la physique moderne est à même de résoudre les problèmes biologiques, de servir de base à la biologie théorique? La biophysique, n'aura-t-elle pas besoin d'une nouvelle physique qui n'existe pas encore? L'histoire de la science connaît des situations, où une théorie élaborée plus tôt ne pouvait plus être appliquée au-delà d'une certaine limite et où il devenait nécessaire de se doter d'un système de notations foncièrement nouveau. Ce fut le cas pour la théorie de la relativité, ainsi que pour la mécanique quantique. On ne peut exclure *a priori* que la vraie biophysique devra être édifiée sur la base d'une autre physique encore inconnue qui différerait par essence de celle que nous connaissons.

On laissera de côté les conceptions du *vitalisme*, selon lesquelles il est tout à fait impossible de comprendre les phénomènes biologiques par le biais de la physique et de la chimie, car il existerait une « force vitale » ou entéléchie ou champ biologique, échappant à toute interprétation physique. Le vitalisme n'est pas scientifique, il nie l'unité de la nature et, finalement, conduit à la théologie. Les conceptions vitalistes ne figurent plus dans la science d'aujourd'hui.

En examinant les possibilités d'une interprétation physique des phénomènes vitaux, c'est-à-dire l'influence de la physique sur le développement actuel et futur de la biologie, il ne faut pas oublier l'influence inverse: celle que la biologie exerce sur la physique. Le principe de la conservation de l'énergie fut découvert par Mayer, Joule et Helmholtz. On sait que Mayer partait de ses observations des organismes vivants, des hommes. On sait moins bien que Helmholtz se fondait également sur des phénomènes biologiques, en se guidant sur une conception nettement antivitaliste. Il écrivait: « A en croire Stahl, les forces agissant dans le corps vivant seraient les forces physiques et chimiques des organes et des substances, mais leur activité pourrait être entravée ou libérée par une âme vitale ou une force vitale inhérente au corps... J'ai trouvé que la théorie de Stahl attribuait à tout corps vivant les propriétés du prétendu *perpetuum mobile* (moteur à mouvement perpétuel)... Je suis donc tombé sur la question de savoir quels rapports devaient exister entre les différentes forces de la nature, vu que *perpetuum mobile* est tout

à fait impossible... ». Non seulement la biophysique, mais la physique entière se développaient en combattant les idées vitalistes.

Penchons-nous sur les idées relatives au rapport entre la physique et la biologie, énoncées par deux physiciens du XXe siècle: Bohr et Schrödinger.

Bohr considérait ce problème en partant du *principe de complémentarité*, dont le principe quanto-mécanique d'incertitude (Heisenberg) est un cas particulier. Selon Bohr, les lois biologiques, à proprement parler, seraient complémentaires par rapport aux lois régissant les corps inanimés. Impossible donc d'étudier simultanément les propriétés physiques et chimiques de l'organisme et du phénomène vital: la connaissance de l'un exclut la connaissance de l'autre. La vie serait à considérer « ...comme le postulat fondamental de la biologie, résistant à toute analyse, de même que l'existence du quantum d'action... constitue la base élémentaire de la physique atomique ». Ainsi, pour Bohr l'étude biologique et l'étude physico-chimique étaient complémentaires, c'est-à-dire incompatibles, bien que n'étant pas en contradiction l'une avec l'autre. Ce n'est pas une conception vitaliste, car elle nie l'existence d'une limite quelconque à l'application de la physique et de la chimie à l'étude des problèmes biologiques. Bohr écrivait: « ...Aucun résultat d'une étude biologique ne peut recevoir une description univoque autrement qu'en faisant appel aux notions de la physique et de la chimie... ».

Le point de vue de Bohr évolua avec le développement de la biologie moderne. Plus tard il parla de la complémentarité entre les considérations à caractère physico-chimique utilisées pratiquement en biologie et les concepts directement liés à l'intégrité de l'organisme et sortant du cadre de la physique et de la chimie. L'application du principe de complémentarité à la biologie était désormais argumentée non plus en attribuant à la notion de vie le caractère d'un postulat, mais en se référant à la complexité extrême de l'organisme en tant que système entier. En d'autres termes, il ne s'agit plus d'une complémentarité de principe: elle est pratique, c'est-à-dire surmontable. Cela paraît tout à fait justifié.

En 1945 Schrödinger publie son livre « Qu'est-ce que la vie? » qui exerce une influence considérable sur l'évolution de la biophysique et de la biologie moléculaire. Il y traite en détail quelques problèmes très importants. Le premier de ces problèmes concerne les principes thermodynamiques de la vie. A première vue, il y a une contradiction frappante entre l'évolution d'un système physique isolé vers l'état à entropie (désordre) maximale (second principe de la thermodynamique) et l'évolution biologique qui va du simple au complexe. Schrödinger dit que l'organisme « se nourrit d'entropie négative ». Cela signifie que les organismes et la biosphère en entier ne sont pas des systèmes isolés, mais ouverts, qui échangent de la

matière et de l'énergie avec le milieu ambiant. L'état hors d'équilibre du système ouvert est maintenu par reflux de l'entropie vers l'environnement. Le deuxième problème est relatif aux particularités structurales communes à tous les organismes. Selon Schrödinger, l'organisme est un *cristal apériodique*, c'est-à-dire un système hautement ordonné semblable à un corps minéral solide, mais dépourvu de périodicité dans la disposition des cellules, des molécules et des atomes. Cette affirmation est valable pour la structure des organismes, des cellules et des macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques). Comme on le verra plus loin, l'idée de cristal apériodique présente une grande importance, lorsqu'on considère les phénomènes vitaux du point de vue de la théorie de l'information. Le troisième problème est la conformité des phénomènes biologiques aux lois de la mécanique quantique. En discutant les résultats des études radiobiologiques de Timofeev-Ressovski, Delbrück, etc., Schrödinger note la nature quantique de la mutagénèse radiative. En même temps, les applications de la mécanique quantique à la biologie ne sont pas banales, car les organismes sont macroscopiques par définition. Schrödinger pose la question : « Pourquoi les atomes sont-ils petits ? ». Il est évident que cette question n'a un sens que lorsqu'on indique, par rapport à quoi ils sont petits. Les atomes sont petits devant nos mesures de longueur habituelles : mètre, centimètre. Mais ces mesures sont comparables aux dimensions du corps humain. Par conséquent, poursuit Schrödinger, la question est à formuler autrement : pourquoi les atomes sont-ils beaucoup plus petits que les organismes ou, autrement dit, pourquoi les organismes sont-ils construits avec un si grand nombre d'atomes ? En effet, le nombre d'atomes constituant la plus petite cellule bactérienne *Mycoplasma laidlawii* est de l'ordre de 10^9. La réponse à cette question consiste en ce que l'ordre nécessaire pour la vie n'est possible que dans un système macroscopique, sinon il serait détruit par les fluctuations. Enfin, Schrödinger se posait la question de savoir à quoi est due la stabilité de la matière des gènes, construite en atomes légers de C, H, N, O, P, durant une multitude de générations. La réponse n'y a été fournie que plus tard par la biologie moléculaire qui a établi la structure en double hélice de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

Nous ne parlerons pas ici des travaux de certains physiciens qui ont proclamé la non-conformité des phénomènes biologiques aux lois de la physique (Elsasser, Wigner, etc.). Le caractère erroné de ces travaux a été démontré dans la littérature scientifique.

Aujourd'hui on a toutes les raisons d'affirmer que la physique moderne ne rencontre aucun obstacle dans son application à l'étude des questions biologiques. Il est bien difficile de s'imaginer qu'une limite quelconque puisse apparaître à l'avenir. Au contraire, le développement fructueux de la biophysique en tant qu'une partie

intégrante de la physique moderne témoigne de ses possibilités illimitées. Certainement, il arrive parfois d'introduire de nouveaux concepts physiques, mais non pas de nouveaux principes ou lois.

§ 1.3. Matière vivante et matière inanimée

Nous définirons l'organisme vivant comme un système hétérogène, ouvert, autoréglable et autoreproductible qui se développe et dont les plus importantes substances fonctionnelles sont les biopolymères: protéines et acides nucléiques. Tout organisme est un système historique en ce sens qu'il est le résultat d'une évolution phylogénétique et qu'il présente lui-même un développement ontogénétique depuis le zygote jusqu'à la vieillesse et la mort.

La physique ordinaire de la matière inanimée ne s'occupe pas de l'histoire. L'électron, l'atome, la molécule se caractérisent par des propriétés physiques constantes, indépendemment de leur origine. Il est vrai que la physique ordinaire étudie les processus cinétiques, dynamiques. Mais l'histoire individuelle du corps physique ne l'intéresse pas.

Cela ne veut pas dire que la physique de la matière inanimée ne connaît pas de problèmes historiques. L'apparition même de la matière vivante, son évolution, ainsi que l'évolution individuelle de chaque être vivant sont partie intégrante de l'évolution de l'Univers entier, du Système solaire, de la Terre. L'examen des analogies et des différences entre la biophysique et les sciences comme cosmologie, astrophysique, géophysique vaut donc la peine de s'y attarder. Un tel examen est bien instructif, car ces différents domaines de la physique peuvent s'enrichir réciproquement par une manière unique de résoudre les problèmes historiques.

Selon les conceptions actuelles, l'Univers tire son origine d'un amas de plasma d'une densité énorme. Il y a quelque $2 \cdot 10^{10}$ ans cet amas a commencé à s'étendre de façon explosive, les photons et les neutrinos donnant naissance aux électrons et aux nucléons et ensuite, au fur et à mesure que l'Univers se refroidissait, aux atomes légers, puis lourds. Il semble que l'expansion de l'Univers soit continue et irréversible. Les forces de gravitation ont déterminé la formation des étoiles et des galaxies. La contraction gravifique élevée fait monter la température des étoiles jusqu'à l'apparition de processus thermonucléaires. Ces processus sont responsables de l'évolution des étoiles et des catastrophes telles que les explosions des supernovae. Le Soleil est une étoile ayant subi une certaine évolution, dont l'une des conséquences est la formation des planètes. On admet actuellement que la Terre existe depuis près de $4{,}5 \cdot 10^9$ ans et la vie sur la Terre depuis quelque $3{,}5 \cdot 10^9$ ans.

La cosmologie et l'astrophysique se fondent sur la théorie de la relativité et la physique quantique (nucléaire), sur la thermodyna-

mique et la mécanique statistique. L'évolution des étoiles se caractérise également par « la lutte pour l'existence »: la concurrence pour la matière qui se condense par l'action de la gravitation. C'est une évolution non darwinienne.

La biophysique et l'astrophysique possèdent aussi deux points communs bien importants. Premièrement, dans l'évolution de l'Univers, ainsi que dans celle de la biosphère, il y a *création* irréversible et continuelle *d'information nouvelle.* Cette information résulte de la mémorisation d'un choix aléatoire. Deuxièmement, dans les deux cas l'évolution irréversible suppose l'existence d'*instabilités.* Un nouveau stade dans l'évolution d'une étoile, d'une planète, d'une biosphère, d'une biogéocénose, d'une espèce ou d'une population biologique est le résultat de l'instabilité du stade précédent. C'est cela qui rend l'évolution irréversible.

Ainsi, les conceptions théoriques fondées sur la théorie de l'information et sur la considération de la stabilité des systèmes dynamiques sont, en principe, communes à la physique de la matière inerte et à celle de la matière vivante.

§ 1.4. Individualité biologique

La nature vivante se caractérise par sa diversité illimitée. A l'heure actuelle on connaît près de $3 \cdot 10^6$ espèces d'êtres vivants. Le nombre d'individus constituant la totalité des végétaux pluricellulaires ou des animaux invertébrés est tout simplement impossible à estimer: il est beaucoup trop grand. Nous ne discernons pas encore l'individualité des spécimens d'une souche d'organismes unicellulaires, mais l'existence de telles particularités est plus que probable. On ne trouve par sur notre planète deux organismes identiques. Cela est dû à la variabilité génétique qui a des limites très larges, ainsi qu'aux différences dans l'interaction avec l'environnement. L'évolution darwinienne est intimement liée à la variabilité, à l'individualisation illimitée des organismes. La biologie scientifique ne saurait exister sans ses divisions descriptives: zoologie et botanique.

La situation est tout autre en ce qui concerne la matière inanimée. Il existe plusieurs centaines d'éléments (y compris les isotopes). On connaît à l'heure actuelle près de 10^2 particules élémentaires. Le nombre des différents atomes et molécules simples observables dans le cosmos est également de l'ordre de 10^2: en étudiant l'évolution des étoiles, on n'a jamais affaire à un nombre plus élevé d'espèces élémentaires. La chimie moderne dénombre quelque 10^6 composés divers, mais là aucune restriction n'est imposée. Ce qui importe, c'est le fait que les atomes ou les molécules d'une espèce donnée sont indiscernables les uns des autres.

Bien sûr, la matière inerte présente aussi une individualisation à l'échelon macroscopique. Les cristaux réels d'un minéral ne sont

pas identiques, car ils se sont formés dans des conditions différentes. Il n'y a pas deux pierres polies et arrondies par l'action de la marée qui soient exactement pareilles.

Or, cette diversité est peu importante pour l'évolution de la nature inanimée, où la variabilité est présente sans l'hérédité.

Quelles peuvent bien être les bases moléculaires, chimiques de cette diversité infinie des systèmes vivants ? C'est la structure macromoléculaire des gènes et des organismes qui en assume la responsabilité. Les chaînes polymères, les macromolécules n'obéissent pas à la principale loi de la chimie, celle des proportions définies. Soit un copolymère constitué de deux variétés d'unités monomères. Si la chaîne macromoléculaire comporte 100 motifs (ce n'est pas une chaîne trop longue), le nombre de chaînes différentes comportant deux types de motifs atteindra $2^{100} \approx 10^{30}$. Ainsi, dans un échantillon macroscopique de copolymère on ne trouvera pas deux macromolécules identiques.

Finalement, la variabilité biologique a pour cause la diversité des gènes, i.e. des segments assez longs des macromolécules d'ADN qui sont des copolymères constitués de motifs de quatre types différents.

Ainsi que la physique tout entière, la biophysique est une science quantitative qui utilise largement l'outillage mathématique. La biologie comme telle, et avant tout la génétique de la population, est également en train de se mathématiser. Mais la description mathématique des particularités individuelles des organismes se heurte à de grandes difficultés. Une telle description peut être numérique, mais non analytique.

§ 1.5. Finalisme et causalité

L'évolution biologique est déterminée par la survie privilégiée des populations mieux adaptées aux conditions du milieu. Corrélativement, la structure de tout organisme présente une certaine accommodation à une niche écologique déterminée. Il est donc tout à fait naturel pour un biologiste d'interpréter les phénomènes qu'il étudie d une façon finaliste. On peut décrire le développement du zygote en organisme parfait, en utilisant la notion de but : le développement a pour but la formation d'un organisme adapté. Déjà aux stades précoces de l'embryogénèse certains groupes de cellules sont prédestinés pour former un organe déterminé : cela commande leur fonctionnalité à tous les niveaux, y compris le niveau moléculaire.

L'organisme est pareil à une machine construite selon un plan afin d'atteindre un but donné. Qui plus est, c'est une machine d'ordre supérieur, capable de réagir rationnellement à un événement non programmé d'avance. La production d'anticorps par l'organisme d'animal supérieur en réponse à l'introduction de n'importe quel

antigène, même artificiel que l'on ne rencontre jamais dans la nature, en fournit un exemple. La description finaliste découle directement du caractère historique des organismes vivants. Elle n'est pas propre à la physique et à la chimie ordinaires. Il est évident que l'affirmation « les ions sodium et chlore entrent en réaction dans le but de former un cristal cubique » est vide de sens. Par contre, le sens de la phrase « vu que les ions Na^+ et Cl^- ont chacun une charge unitaire et tel ou tel rayon, le cristal ionique NaCl doit être cubique » est tout à fait clair. Le biologiste pose souvent la question « dans quelle intention? », alors que le physicien demande « pour quelle raison? ». Il est évident que c'est la seconde question qui a un vrai sens scientifique. La physique et toutes les sciences naturelles sont causales: la science cherche les causes des phénomènes.

Il n'y a, en réalité, aucune contradiction entre la finalité et la causalité: la distinction indiquée entre la physique et la biologie n'est qu'apparente. Le finalisme apparaît en physique toutes les fois qu'on a affaire aux problèmes de stabilité, aux principes variationnels. Nous parlons ici de stabilité au sens mathématiquement strict, celui de Liapounov (v. Chapitre 15). L'état stable d'un système dynamique est maintenu, lorsque les perturbations sont faibles: le système écarté de son état stable le retrouve. La formulation finaliste: le système tend à retrouver son état. Par contre, un état instable est irréversiblement modifié par une faible perturbation: le système tend à passer dans un autre état. Exemple: états d'équilibre d'un pendule physique, stable et instable.

Un principe variationnel est toujours finaliste. Ainsi, selon le principe de la moindre action de Hamilton, la variation de l'action est nulle, l'action est minimale. « Le but d'un système mécanique consiste dans sa moindre action. » Mais, comme le montre la mécanique classique, le principe de Hamilton est équivalent aux équations du mouvement de Lagrange qui ressortent à leur tour de la deuxième loi de Newton. Cette loi est causale, elle décrit le mouvement accéléré comme le résultat de l'action des forces. Mentionnons encore quelques lois physiques, dont la formulation est finaliste: principe de Fermat en optique, principe de Le Chatelier en thermodynamique, loi de Lenz en électrodynamique. Le finalisme variationnel a un fond causal. On pourrait infiniment multiplier de tels exemples.

§ 1.6. Propriétés des systèmes ouverts

Comme nous l'avons déjà signalé, les systèmes vivants sont ouverts par principe et, donc, hors d'équilibre. Le biologiste soviétique Bauer a été un des premiers à le comprendre, lorsqu'il écrivait: « ...l'état hors d'équilibre de la matière vivante et, donc, son aptitude continuelle à fonctionner sont conditionnés... par la structure moléculaire de la matière vivante, alors que la source du travail

fourni par les systèmes vivants est, au bout du compte, l'énergie libre inhérente à cette structure moléculaire, à cet état des molécules ». L'application de la thermodynamique des systèmes ouverts à la biologie a été poursuivie par Bertalanffy et, surtout, par Prigogine et son école.

L'organisme est un système thermodynamiquement ouvert, où se déroulent des réactions chimiques. Les réactions biochimiques sont catalytiques à toutes leurs étapes, les protéines-enzymes servant de catalyseurs. La variation de l'entropie d'un tel système s'exprime par la somme de l'entropie produite à l'intérieur du système (d_iS) et de l'entropie venant de l'extérieur ou s'en allant vers le milieu extérieur (d_eS):

$$dS = d_iS + d_eS. \tag{1.1}$$

La grandeur d_iS est toujours positive par suite du deuxième principe de la thermodynamique: si l'on plaçait l'organisme dans une enveloppe isolante, $d_eS = 0$ et l'entropie ne pourrait qu'augmenter; d_iS est la production d'entropie par les réactions chimiques internes. Le signe de d_eS est fonction des conditions concrètes. Il découle de l'équation (1.1) que le système ouvert peut présenter un état stationnaire, mais hors d'équilibre. Dans l'état stationnaire les grandeurs thermodynamiques caractérisant le système sont constantes, mais leurs valeurs ne sont pas celles d'équilibre. L'entropie du système n'est pas maximale. Pour l'*état stationnaire* on a

$$dS = 0, \quad \text{i.e.} \quad d_eS = -d_iS < 0. \tag{1.2}$$

En d'autres termes, l'entropie produite est entièrement exportée vers l'extérieur.

Considérons maintenant un système isolé constitué par un organisme et son milieu ambiant. L'organisme reçoit de ce milieu la nourriture, l'oxygène, l'eau, en y renvoyant à son tour différentes substances. Entre l'organisme et le milieu il y a un échange de chaleur. C'est dans ces conditions que se trouve, pratiquement, le cosmonaute dans son vaisseau spatial. L'organisme du cosmonaute est un système ouvert par rapport au vaisseau qui est bien isolé de l'espace cosmique qui l'entoure. En conformité avec le deuxième principe de la thermodynamique la variation totale de l'entropie de tout le système est positive:

$$dS = dS_1 + dS_2 > 0, \tag{1.3}$$

où dS_1 et dS_2 sont les variations de l'entropie du cosmonaute et de son environnement. On a

$$dS_1 = d_iS_1 + d_eS_1. \tag{1.4}$$

La variation d'entropie dS_2 ne se produit que lorsque le milieu extérieur échange avec le cosmonaute de la matière et de l'énergie, car

le milieu entourant le cosmonaute ne produit, pratiquement, aucune entropie. Par conséquent,

$$dS_2 = -d_eS_1 \quad \text{et} \quad dS = d_iS_1 > 0. \qquad (1.5)$$

Lorsque l'état du cosmonaute est stationnaire, il vient

$$dS_1 = 0, \quad d_eS_1 = -d_iS_1 < 0, \quad dS_2 = dS = d_iS_1 > 0. \qquad (1.6)$$

Ainsi, l'état stationnaire du cosmonaute est maintenu par l'accroissement de l'entropie dans le milieu extérieur, car il y a dans ce cas passage de l'entropie de l'organisme du cosmonaute dans le milieu, passage qui compense la production d'entropie dans l'organisme. Telle est la signification des mots de Schrödinger : « l'organisme se nourrit d'entropie négative ». L'entropie du milieu extérieur augmente ($dS_2 > 0$) du fait que le cosmonaute dégage de la chaleur et aussi parce que l'entropie des substances que le cosmonaute libère est supérieure à celle des substances qu'il consomme. Cet état stationnaire du cosmonaute sera maintenu tant que le milieu extérieur aura une quantité suffisante de substances nutritives ou que des processus irréversibles dans l'organisme du cosmonaute ne provoqueront pas son changement (vieillissement). Un état stationnaire peut être durable, mais jamais éternel. Sa réalisation est déterminée par l'existence de deux échelles de temps: une échelle rapide pour le temps d'échange d'entropie avec le milieu extérieur et une échelle relativement lente pour le temps d'épuisement des réserves en substances nutritives et (ou) de vieillissement de l'organisme.

Prenons encore un exemple. Soient deux grands réservoirs de chaleur qui ont les températures T_1 et T_2 et qui sont réunis entre eux avec un conducteur de chaleur de petit diamètre. Un courant de chaleur constant s'établit dans ce conducteur dont chaque tronçon se trouvera dans un état stationnaire. Cet état stationnaire se conserve, tant que les températures T_1 et T_2 qui s'égalisent lentement n'auront pas changé plus ou moins sensiblement. Le temps d'établissement de l'état stationnaire est de loin inférieur à celui qu'il faut pour atteindre l'équilibre définitif, où $T_1 = T_2$. Lorsqu'on calcule le régime stationnaire par rapport à l'échelle temporelle rapide, les températures T_1 et T_2 sont posées constantes: elles ne varient que par rapport à l'échelle lente.

L'existence même de la biosphère peut être considérée en tant qu'un processus stationnaire, ayant pour fond le phénomène grandiose et irréversible de refroidissement du Soleil.

L'état stationnaire d'un système ouvert peut être proche ou éloigné de l'équilibre, être stable ou instable. A son tour, un état non stationnaire peut être proche ou éloigné de l'état stationnaire. Comme on le verra plus bas (Chapitre 9), la thermodynamique des systèmes ouverts est différente, suivant qu'ils sont proches ou éloignés de l'équilibre. Il existe des critères quantitatifs stricts de la proxi-

mité ou de l'éloignement. Nombre de faits montrent que les systèmes biologiques sont bien loin d'être équilibrés. Le développement biologique n'est possible que dans un système loin de l'équilibre.

Cependant, cela ne veut pas dire qu'il est impossible d'appliquer la thermodynamique classique de l'équilibre à l'étude de tout phénomène biologique. Les processus vitaux dynamiques et irréversibles se déroulent à l'intérieur d'une structure organisée qui varie bien lentement ou demeure pratiquement inchangée. Cela est vrai pour tous les niveaux de la structure biologique en commençant par le niveau moléculaire. On peut donc, en étudiant la structure, partir de son équilibre thermodynamique conventionnel. La genèse même d'une structure biologique est représentable, de façon approchée, sous forme de deux stades: biosynthèse de ses éléments constitutifs (macromolécules, cellules) et leur assemblage en un système organisé. Ce second processus est placé, dans une mesure considérable, sous le contrôle thermodynamique: ainsi, au niveau moléculaire le système tend à avoir le potentiel chimique minimal. La thermodynamique de l'équilibre se trouve être une des bases de la biophysique moléculaire.

D'autre part, il est bien évident qu'en biologie on a affaire à un ensemble complexe de phénomènes thermodynamiques et cinétiques. On peut illustrer la distinction entre la thermodynamique et la cinétique en considérant le déroulement d'une réaction chimique. La réaction n'est possible que lorsqu'elle s'accompagne d'une diminution de l'énergie libre: $\Delta G < 0$. C'est une condition nécessaire qui n'est pourtant pas suffisante pour que la réaction se produise. Lorsque l'état initial et l'état final du système sont séparés par une haute barrière d'activation, la constante de vitesse de réaction k qui est une fonction exponentielle de la hauteur de la barrière d'énergie E_a, est donnée, conformément à la *loi d'Arrhenius*, par

$$k = A \exp (-E_a/RT), \tag{1.7}$$

où A est un facteur préexponentiel, R la constante des gaz, T la température absolue qui peut être infiniment petite. Un état hors d'équilibre, protégé par une haute barrière, peut donc être considéré comme un état d'équilibre. Un exemple en est fourni par le gaz détonant: mélange de H_2 et O_2 qui explose, si l'on active la réaction en chaîne en y introduisant une allumette brûlante, mais qui reste stable (quasi équilibré) en l'absence d'activation. Le rôle du catalyseur consiste à abaisser la barrière d'activation E_a.

Le recours à la thermodynamique du non-équilibre s'impose dans le traitement des processus dynamiques: cela concerne avant tout les phénomènes de développement.

La théorie de l'information présente un rapport direct avec la thermodynamique. La variation de la quantité d'information d'un système considéré en tant qu'un message est proportionnelle à la

variation de l'entropie (v. Chapitre 9). Les aspects informationnels de la biophysique sont bien intéressants. On découvre le rôle euristiquement limité de la quantité d'information (et, par là, de l'entropie) dans le traitement des systèmes biologiques en développement. Il s'avère nécessaire de faire entrer en ligne de compte la réception d'information et la création d'information nouvelle. L'une et l'autre ne sont possibles que dans des conditions de déséquilibre, d'état non stationnaire et d'instabilité. Ce qui importe en biologie, ce n'est pas la quantité de l'information, mais sa qualité, son sens ou sa valeur (v. Chapitre 17).

§ 1.7. Domaines et méthodes de la biophysique

La nature vivante et les organismes vivants sont des systèmes complexes à plusieurs niveaux. Molécules grandes et petites, organites cellulaires, cellules, tissus, organes, organismes, populations, biocénoses, biosphère — ce sont les niveaux qui intéressent la biologie et, partant, la biophysique.

Dans cette dernière on distingue, de façon conventionnelle, trois domaines: biophysique moléculaire, biophysique de la cellule, biophysique des systèmes complexes. Cette division si elle n'est pas obligatoire, est bien pratique. Caractérisons le contenu et les méthodes de ces trois domaines de la biophysique.

La biophysique moléculaire a pour objet la structure et les propriétés physiques et chimiques des molécules biologiquement fonctionnelles, avant tout des biopolymères: protéines et acides nucléiques. Les objectifs de la biophysique moléculaire consistent à découvrir les mécanismes physiques responsables de la fonctionnalité biologique des molécules, telle l'activité catalytique des protéines-enzymes. C'est le domaine le plus élaboré de la biophysique, indissoluble de la biologie moléculaire et de la chimie. La raison de ses progrès considérables est claire: il est plus facile d'étudier les molécules (même celles des protéines, les plus complexes que la science connaisse) que les cellules ou les organismes. La biophysique moléculaire s'appuie, d'une part, sur les disciplines ayant trait à la biologie et à la chimie (biochimie, biologie moléculaire, chimie bioorganique et biominérale) et, d'autre part, sur la physique des petites et des grosses molécules. Voilà pourquoi nous commençons par considérer les bases chimiques de la biophysique (Chapitre 2) et la physique des macromolécules (Chapitre 3), avant de passer à la biophysique moléculaire proprement dite (Chapitres 4 à 8).

Les objectifs principaux de la biophysique moléculaire se rapportant à la structure des molécules et à leur fonctionnalité, nous pouvons, comme on l'a déjà signalé, considérer leurs propriétés à l'équilibre. La biophysique moléculaire a pour outillage théorique la thermodynamique de l'équilibre, la mécanique statistique et, certaine-

ment, la mécanique quantique, car là il s'agit de chimie et de molécules. L'étude expérimentale des molécules biologiquement fonctionnelles (que nous appellerons par la suite molécules biologiques tout court) fait intervenir une large gamme de méthodes physiques. Ce sont, premièrement, les méthodes que la physique des macromolécules utilise pour déterminer leurs masse moléculaire, dimensions et forme : sédimentation par ultracentrifugation, diffusion de la lumière et des rayons X par les solutions des substances étudiées, etc. Deuxièmement, on applique les méthodes d'étude de la structure moléculaire fondées sur l'interaction des corps avec la lumière, des rayons X aux radiations de radiofréquence. Les méthodes optiques et spectroscopiques, au sens large de ces mots, embrassent radiocristallographie, spectroscopie par résonance de la radiation γ (effet Mössbauer), spectres électroniques et de vibration, i.e. spectres d'absorption et de luminescence dans l'ultraviolet et dans le domaine visible, spectres infrarouges et spectres Raman. S'y rattache également la spectropolarimétrie (étude de la rotation naturelle et magnétique du plan de polarisation de la lumière et du dichroïsme circulaire). Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) et de résonance paramagnétique électronique (RPE) fournissent une information très précieuse. Dans le cas de la RPE l'emploi des marqueurs de spin est très important. Troisièmement, il existe des méthodes calorimétriques appliquées à l'étude des transformations des macromolécules biologiques. Il y a, enfin, étude directe de la structure des protéines et des acides nucléiques (ainsi que, bien sûr, des structures supramoléculaires, des organites cellulaires et des cellules) par microscopie électronique.

Certaines de ces méthodes sont utilisées par la biologie d'une façon spécifique. Il est donc nécessaire d'en parler dans le cours de biophysique. Le chapitre 5 est consacré à un exposé sommaire de la théorie des méthodes optiques et spectroscopiques et de quelques résultats biophysiques obtenus à l'aide de ces méthodes.

La biophysique moléculaire passe tout naturellement dans la biophysique de la cellule qui étudie la structure et la fonctionnalité des systèmes cellulaires et tissulaires. Ce domaine de la biophysique est le plus ancien et traditionnel. Sa tâche principale consiste aujourd'hui à étudier la physique des membranes biologiques et des processus bioénergétiques. La biophysique de la cellule s'intéresse à la génération et la propagation des influx nerveux, aux processus mécanochimiques (telle la contraction musculaire), aux phénomènes photobiologiques (photosynthèse, vision). Ce domaine de la biophysique utilise les mêmes méthodes expérimentales. Elle a à confronter des problèmes plus compliqués et des difficultés plus grandes que la biophysique moléculaire. La biophysique de la cellule est l'objet des chapitres 10 à 14.

On appelle conventionnellement biophysique des systèmes com-

plexes le domaine principalement théorique de la biophysique consacré aux problèmes physico-biologiques généraux et à la simulation physico-mathématique des processus biologiques. Nous énumérons ci-dessous les principales subdivisions actuelles de la biophysique théorique des systèmes complexes.

1. Théorie générale des systèmes dynamiques non linéaires dissipatifs : thermodynamique des processus irréversibles et simulation cinétique.

2. Théorie des milieux excitables, où entre la théorie des processus oscillants biologiques.

3. Traitement théorique général des phénomènes bioénergétiques.

4. Théorie générale et simulation des processus de développement biologique qui inclut les approches de ces phénomènes fondées sur la théorie de l'information.

Les chapitres 9 et 15 à 17 traitent spécialement de ces questions, mais on retrouvera les mêmes idées générales dans les chapitres consacrés aux problèmes de la biophysique cellulaire.

CHAPITRE 2

FONDEMENTS CHIMIQUES DE LA BIOPHYSIQUE

§ 2.1. Chimie et biologie

La cellule vivante, l'organisme vivant sont des machines chimiques complexes. Ils existent grâce aux transformations chimiques des substances venant de l'extérieur et à la libération d'autres substances vers le milieu extérieur par les processus métaboliques. La biologie et la biophysique sont impensables sans la chimie.

Aucune méthode physique ne pourrait, par elle-même, fournir la description de la structure d'une molécule complexe: là une étude chimique s'impose dans tous les cas. La chimie résout ces problèmes en étudiant la structure des corps et leurs transformations dans les réactions chimiques.

Dès son origine la chimie organique (chimie de la vie) fut complètement séparée de la chimie minérale. On la considérait comme un appui sûr du vitalisme, mais cet état des choses ne dura que jusqu'à l'époque où l'on apprit à synthétiser des composés organiques à partir de substances d'origine minérale (la première réalisation de ce genre fut la synthèse de l'urée $CO(NH_2)_2$ effectuée par Wöhler en 1828). Par la suite, la chimie organique a cessé d'être chimie du monde vivant. Elle est devenue chimie synthétique des composés carbonés: chimie des hydrocarbures et de leurs dérivés. La biochimie qui a pour objet la structure et les propriétés des molécules biologiques et le déroulement des réactions chimiques dans l'organisme vivant, a évolué d'une façon à peu près indépendante. Les succès de la biochimie dans le décodage des réseaux métaboliques compliqués sont immenses. L'union de la biochimie et de la physique a donné naissance à la *biologie moléculaire* qui s'occupe de l'interprétation physico-chimique (moléculaire) des principaux phénomènes biologiques et surtout de l'hérédité. En même temps, la chimie organique, riche de sa longue expérience de l'étude des composés organiques, s'est de nouveau tournée vers le monde vivant. Ainsi apparaît la *chimie bio-organique* et, un peu plus tard, la *chimie biominérale* qui étudie les molécules biologiques qui contiennent des atomes métalliques. Impossible de délimiter nettement les domaines énumérés

de la recherche chimique appliquée aux phénomènes vitaux ; d'ailleurs, cela n'est pas nécessaire.

Dégageons les caractères principaux de la chimie de la vie, chimie des molécules biologiques.

1. Un système vivant est toujours hétérogène chimiquement. Il serait absurde de parler de molécules vivantes : une molécule biologique isolée ne vit pas.

2. Le monde vivant se caractérise par l'unité de sa structure chimique. La diversité immense des espèces et des individus biologiques ne se traduit pas par la même diversité des molécules biologiques et des réactions biochimiques. Les principales substances et les principaux mécanismes chimiques sont identiques dans tout le monde vivant. Toutes les protéines sont constituées de vingt acides aminés, tous les acides nucléiques de quatre nucléotides. Les mêmes structures atomiques figurent dans tous les organismes. Les processus biochimiques fondamentaux sont également du même type. La diversité des organismes découle de la diversité des combinaisons des mêmes groupes atomiques et de leurs interactions.

3. La structure et les propriétés de la cellule et de l'organisme sont dictées, au bout du compte, par les acides nucléiques (ADN et ARN) qui détiennent le pouvoir « législatif » dans ce sens qu'ils donnent le programme génétique de la synthèse des protéines. A leur tour, les protéines ont le pouvoir « exécutif » : il suffit de signaler qu'aucune réaction chimique dans la cellule ne se produit sans intervention d'un enzyme spécial.

4. Les processus biochimiques et les molécules biologiques sont l'aboutissement d'une évolution. L'évolution biologique fut précédée par l'évolution chimique (v. Chapitre 17), puis elles ont gardé une liaison étroite. Une adaptation biochimique, moléculaire aux conditions du milieu caractérise tous les espèces et organismes. En étudiant la chimie de la vie, il faut toujours tenir compte du développement biologique.

5. Une individualisation précise et fine est caractéristique de la vie. De petits écarts dans la structure des molécules, tels que la différence entre les groupes méthyle et éthyle, peu importants en chimie ordinaire, présentent une grande importance en biologie (l'alcool éthylique $H_3C—CH_2—OH$ provoque l'ivresse et l'alcool méthylique $H_3C—OH$ la cécité). Les molécules et les macromolécules biologiques ont une structure et une composition strictement définies.

6. Les réactions chimiques dans les organismes sont placées sous le contrôle rigoureux des liaisons directes et des rétroactions dans les processus métaboliques à plusieurs stades, ainsi que de la séparation spatiale des réactions par *compartimentation* : division à l'aide de membranes cellulaires et intracellulaires. Des gradients de concentration très précis sont maintenus.

7. Notons, enfin, que les molécules biologiques sont constituées d'atomes d'éléments légers: C, H, O, N, P, S. En outre, les ions métalliques alcalins et alcalinoterreux (Na, K, Ca, Mg) ont une fonctionnalité universelle dans les organismes. D'autres métaux (Fe, Zn, etc., jusqu'à Mo), présents en faibles quantités, jouent un rôle très important, quoiqu'il ne soit pas universel.

L'organisme humain contient (en pour cent atomiques) 60,56 de H, 25,67 d'O, 10,68 de C, 2,44 de N, 0,23 de Ca, 0,13 de P, 0,13 de S, 0,08 de Na, 0,04 de K, 0,03 de Cl, 0,01 de Mg et beaucoup moins de Fe, Zn, Cu, Co, Se, F, I. La proportion élevée de H et O s'explique par une grande teneur en eau.

La suite de ce chapitre sera consacrée à une caractéristique sommaire des molécules biologiques et des processus biochimiques les plus importants. Notre intention n'est pas de reprendre un cours de biochimie : nous nous proposons de faire le résumé des renseignements fondamentaux, nécessaires pour pouvoir exposer la biophysique.

§ 2.2. Acides aminés

Toutes les protéines sont constituées de 20 types de résidus acides aminés; quelques acides aminés ne figurant pas dans les protéines participent au métabolisme. L'origine des acides aminés sur la Terre date, probablement, de la première étape de l'évolution chimique (il y a quelque $4 \cdot 10^9$ ans). Ils résulteraient de réactions chimiques dans l'atmosphère archaïque, réductrice, ainsi que dans l'océan, avec absorption d'énergie (Chapitre 17). On trouve des acides aminés élémentaires dans les météorites.

Les résidus d'*α-amino-acides* que l'on rencontre dans les protéines ont la structure

$$\begin{array}{ccc} R & & NH_2 \\ & \diagdown\diagup & \\ & C & \\ & \diagup\diagdown & \\ H & & COOH \end{array}$$

où R est un radical hydrocarboné ou hétéroatomique (qui renferme, en plus de C et H, d'autres atomes: O, S, N). Comme le montre l'étude des propriétés électriques des acides aminés (§ 2.3), leur structure est représentée d'une façon plus adéquate par la formule d'un *ion bipolaire* (appelé également *ion hybride* ou *Zwitterion*) :

$$\begin{array}{ccc} R & & N^+H_3 \\ & \diagdown\diagup & \\ & C & \\ & \diagup\diagdown & \\ H & & COO^- \end{array}$$

Tableau 2.1

Résidus canoniques d'acides aminés

nº	Nom du résidu et de l'acide aminé	Désignation	Désignation abrégée	Radical (R)
		1. Résidus neutres		
1.	Glycyle Glycine	Gly	G	$-H$
2.	Alanyle Alanine	Ala	A	$-CH_3$
3.	Valyle Valine	Val	V	$-CH(CH_3)_2$
4.	Leucyle Leucine	Leu	L	$-CH_2-CH(CH_3)_2$
5.	Isoleucyle Isoleucine	Ile	I	$-CH(C_2H_5)CH_3$
6.	Phénylalanyle Phénylalanine	Phe	F	$-CH_2-C_6H_5$
7.	Prolyle Proline *	Pro	P	$-CH-(CH_2)_3-N-$ └──────────┘
8.	Tryptophanyle Tryptophane	Trp	W	CH / ⫽ $-CH_2-C-C$ CH ‖ | | HC C CH \ / \ ⫽ NH CH
9.	Séryle Sérine	Ser	S	$-CH_2OH$
10.	Théonyle Thréonine	Thr	T	$-CH(OH)CH_3$
11.	Méthionyle Méthionine	Met	M	$-CH_2-CH_2-S-CH_3$
12.	Asparaginyle Asparagine	Asn	N	$-CH_2-CO-NH_2$
13.	Glutaminyle Glutamine	Gln	Q	$-CH_2-CH_2-CO-NH_2$
14.	Cystéinyle Cystéine **	Cys—SH	C	$-CH_2SH$
		2. Résidus acides (anions)		
15.	Aspartyle Acide aspartique	Asp	D	$-CH_2-COO^-$

* La proline est un iminoacide et non aminoacide: à la place du groupe amine NH_2 elle a le groupe imine NH.

** En règle générale, dans les protéines les résidus da la cystéine sont unis par une liaison disulfure avec perte d'hydrogène ($-CH_2-S-S-CH_2-$). Le résidu est alors appelé cystinyle et désigné par Cys ou C.

Suite du tableau 2.1

nº	Nom du résidu et de l'acide aminé	Désignation	Désignation abrégée	Radical (R)
16.	Glutamyle Acide glutamique	Glu	E	$-CH_2-CH_2-COO^-$
17.	Tyrosyle Tyrosine	Tyr	Y	$-CH_2-C_6H_4-O^-$
		3. Résidus basiques (cations)		
18.	Histidyle Histidine	His	H	$-CH_2-C{=}CH$, cycle H_2N^+ — N, $=CH$
19.	Lysyle Lysine	Lys	K	$-(CH_2)_4-N^+H_3$
20.	Arginyle Arginine	Arg	R	$-(CH_2)_3-NH-C(=NH)-N^+H_3$

La formation d'une chaîne protéique ou polypeptidique se fait par polycondensation d'acides aminés:

$$H-\underset{COO^-}{\overset{R_1}{C}}-N^+H_3+H-\underset{COO^-}{\overset{R_2}{C}}-N^+H_3 \xrightarrow{-H_2O} H_3N^+-\underset{R_1}{\overset{H}{C}}-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\underset{H}{N}-\underset{R_2}{\overset{H}{C}}-COO^-$$

avec apparition de liaisons peptidiques —NH—CO—.

Le tableau 2.1 rassemble 20 acides aminés canoniques sous forme de résidus —CO—CHR—NH—, classés d'après leurs propriétés électrochimiques. On y trouve des résidus hydrocarbonés aliphatiques (Ala, Val, Gly, Ile, Leu), des résidus renfermant un hydroxyle (Ser, Thr), un groupe amide (Asn, Gln), un carboxyle (Asp, Glu), du soufre (Cys, Met), des cycles aromatiques π-électroniques (Tyr, Phe, Trp, His). Cela assure toute la diversité des propriétés et de la structure des protéines.

Outre les 20 résidus canoniques on trouve dans les protéines des dérivés de quelques radicaux. Parmi ces résidus mineurs l'hydroxyprolyle

$$-CO-CH-CH_2\searrow CH-OH,\quad \underset{|}{N}-CH_2\nearrow$$

est le plus important, car il est contenu en proportion considérable dans une des protéines animales universelles, le collagène.

§ 2.3. Electrolytes

Les organismes renferment une multitude d'ions: petits cations et anions organiques et minéraux, groupes basiques et acides des résidus acides aminés dans les protéines et des nucléotides dans les acides nucléiques. La dissociation des électrolytes en ions est provoquée par leur entourage aqueux. La théorie des électrolytes est exposée dans les cours de chimie physique; nous nous limiterons donc ici à quelques notions sommaires qui seront utiles pour la suite de notre exposé.

Selon Brönsted, l'acide est une molécule susceptible de fournir un proton et la base est une molécule susceptible d'en capter un. L'eau est un acide dans la réaction $H_2O \rightleftarrows H^+ + OH^-$ et une base dans la réaction $H_2O + H^+ \rightleftarrows H_3O^+$ (ion oxonium).

L'eau étant un électrolyte très faible, sa constante de dissociation est très petite. A 25 °C on a dans l'eau

$$[H^+][OH^-] = K[H_2O] = 10^{-14} \text{ mol}^2/\text{l}^2. \quad (2.1)$$

Comme $[H^+] = [OH^-]$, la teneur de l'eau en ions hydrogène est égale à 10^{-7} mol/l. Par souci de commodité on utilise le logarithme décimal négatif de cette grandeur: c'est ce qu'on appelle pH. Pour l'eau (milieu neutre), le pH vaut 7. Pour les acides pH < 7 et pour les bases pH > 7.

Les électrolytes biologiques sont normalement faibles (peu dissociés). Considérons la dissociation d'un acide quelconque $HA \rightleftarrows H^+ + A^-$. La constante de dissociation (constante d'équilibre de cette réaction) K est donnée par

$$K = \frac{a_H a_A}{a_{HA}}, \quad (2.2)$$

où $a_H = a_A$ et a_{HA} sont les activités des corps correspondants en solution. Dans les solutions quasi idéales les activités sont pratiquement égales aux concentrations molaires. Il vient donc

$$[H^+]^2 = K[HA], \quad (2.3)$$

et, si $pK = -\lg K$, on a

$$pH = {}^1/_2 (pK - \lg [HA]). \quad (2.4)$$

Le taux d'ionisation d'un acide faible dans l'eau s'écrit

$$\alpha = \frac{[A^-]}{[A^-]+[HA]} \approx \frac{[H^+]}{[HA]} = \sqrt{\frac{K}{[HA]}}. \quad (2.5)$$

Le degré de dissociation ou la force d'un acide croît avec K, i.e. diminue avec l'accroissement de pK; la force d'une base diminue avec l'accroissement de K, i.e. croît avec pK. La condition $[A^-] = [H^+]$ n'est valable que pour une solution neutre. Dans le cas

général,

$$\mathrm{pH} = \mathrm{pK} \pm \lg \frac{a_\mathrm{A}}{a_\mathrm{HA}} \tag{2.6}$$

ou (pour une solution idéale)

$$\mathrm{pH} = \mathrm{pK} \pm \lg \frac{\alpha}{1-\alpha}. \tag{2.7}$$

Le signe plus correspond à un acide, le signe moins à une base pour laquelle

$$\alpha = \frac{[\mathrm{HA}]}{[\mathrm{A}^-]+[\mathrm{HA}]}, \tag{2.8}$$

ce qui correspond à la réaction inverse A^- $H^+ \rightleftarrows HA$, A^- étant une base.

Dans une solution non idéale les activités ne sont pas identiques aux concentrations. On a alors

$$\mathrm{pH} = \mathrm{pK} + \lg \frac{\gamma_\mathrm{A}}{\gamma_\mathrm{HA}} \pm \lg \frac{\alpha}{1-\alpha}, \tag{2.9}$$

où γ_A, γ_HA sont les coefficients d'activité.

Le caractère non idéal d'une solution électrolytique résulte de l'interaction des ions entre eux, ainsi qu'avec les molécules du solvant. La concentration ionique étant suffisamment élevée, chaque ion se trouve entouré d'une *atmosphère ionique*: ions de signe opposé.

La théorie de Debye-Hückel qui part de la mécanique statistique classique et de l'électrostatique, permet de déterminer l'énergie libre d'interaction ionique en solution. Le système considéré est constitué par l'ion central et l'atmosphère d'ions de signe opposé qui l'entoure. L'énergie libre d'interaction par unité de volume de la solution s'écrit

$$G = -\frac{\varkappa^3 kT}{12\pi}, \tag{2.10}$$

où k est la constante de Boltzmann, T la température et $\varkappa$ le paramètre de Debye-Hückel que l'on appelle rayon de l'atmosphère ionique, mais dont la dimension est l'inverse de la longueur. On exprime le paramètre $\varkappa$ en fonction des charges des ions e_i et de leur nombre dans l'unité de volume n_i:

$$\varkappa^2 = \frac{4\pi}{\varepsilon kT} \sum_i e_i^2 n_i, \tag{2.11}$$

où ε est la permittivité du solvant; la sommation s'étend à toutes les espèces d'ions i. Le coefficient d'activité γ_i d'une espèce donnée d'ions est déduit de la variation de l'énergie libre provoquée par l'élimination de l'ion de la solution

$$\frac{\partial G}{\partial n_i} = -\frac{e_i^2 \varkappa}{2\varepsilon} = -\frac{|e|^2 z_i^2 \varkappa}{2\varepsilon} = kT \ln \gamma_i, \tag{2.12}$$

$|e|$ étant la valeur absolue de la charge de l'électron et z_i la valence de l'ion. On a

$$\ln \gamma_i = -\frac{1}{2} \frac{e^2 z_i^2 \varkappa}{\varepsilon kT} = -\frac{|e|^3 z_i^2 (2\pi)^{1/2}}{(\varepsilon kT)^{3/2}} I^{1/2}. \tag{2.13}$$

Ici I est ce qu'on appelle *force ionique* d'une solution

$$I = \frac{1}{2} \sum_i n_i z_i^2. \qquad (2.14)$$

I a la dimension inverse de celle du volume. La force ionique caractérise le nombre total de charges ioniques dans l'unité de volume, quels que soient les signes de ces charges. La force ionique, le pH et le pK sont les plus importantes caractéristiques d'une solution ionique.

Ainsi, le coefficient d'activité d'une espèce ionique donnée dépend de la concentration des ions de toutes les espèces.

La théorie de Debye-Hückel est valable pour les électrolytes forts. Les acides aminés sont des électrolytes faibles. Toutefois, lorsque la force ionique est élevée, les coefficients d'activité des acides aminés diffèrent de l'unité. Avec les forces ioniques petites $\gamma_A \approx \gamma_{HA} \approx 1$ et (cf. (2.9))

$$\mathrm{pH} \approx \mathrm{pK} \pm \lg \frac{\alpha}{1-\alpha}. \qquad (2.15)$$

En titrant un acide faible avec une base forte, telle que NaOH, on assiste à la réaction

$$HA + Na^+ + OH^- \to A^- + Na^+ + H_2O$$

Il s'ensuit que $[A^-] \approx [Na^+]$. Le taux d'ionisation α est égal au rapport des concentrations de l'électrolyte fort et de l'électrolyte faible :

$$\alpha = \frac{[A^-]}{[A^-]+[HA]} \approx \frac{[Na^-]}{[HA]}. \qquad (2.16)$$

On détermine α, pH et, donc, pK en titrant un acide avec une base et une base avec un acide. Les déterminations approximatives se font à l'aide d'indicateurs chimiques. Si l'on désire plus de précision, on utilise des méthodes potentiométriques, fondées sur la mesure du potentiel sur une électrode plongée dans la solution. Le potentiel varie lors du titrage. Le pH est déterminé à l'aide d'une électrode de verre. Cette électrode, ainsi que l'électrode de référence (normalement, au calomel) sont placées dans une solution, dont on connaît la concentration en corps analysé. La graduation appropriée permet de mesurer la différence de potentiel directement en unités de pH.

Les acides aminés sont des électrolytes amphotères caractérisés par deux valeurs de pK qui correspondent au titrage des groupes acides COO^- par un alcali (pK_1) et au titrage des groupes basiques N^+H_3 par un acide (pK_2). On trouvera dans le tableau 2.2 quelques valeurs de pK_1, pK_2, pK_3 (pour les acides aminés à radicaux ioniques), ainsi que celles de pH_i qui correspondent au *point isoélectrique*. Un acide aminé se déplace vers la cathode, s'il porte une charge

Tableau 2.2

Constantes électrochimiques de quelques acides aminés

Acide aminé	pK_1	pK_2	pK_3	pH_i
Glycine	2,35	9,78		6,1
Alanine	2,34	9,87		6,1
Valine	2,32	9,62		6,0
Leucine	2,36	9,60		6,0
Sérine	2,21	9,15		5,7
Proline	1,99	10,60		6,3
Tryptophane	2,38	9,39		5,9
Acide aspartique	2,09	3,87 (COO^-)	9,82 (NH_3^+)	3,0
Acide glutamique	2,19	4,28 (COO^-)	9,66 (NH_3^+)	3,2
Tyrosine	2,20	9,11 (NH_3^+)	10,1 (O^-)	5,7
Cystéine	1,96	8,18 (NH_3^+)	10,28 (S^-)	5,1
Arginine	2,02	9,04 (NH_3^+)	12,48 (guanidine)	10,8
Lysine	2,18	8,95 (NH_3^+)	10,53 (NH_3^+)	9,7
Histidine	1,77	6,10 (imidazole)	9,18 (NH_3^+)	7,6

positive, et vers l'anode, s'il est porteur d'une charge négative. Au point isoélectrique la molécule d'un électrolyte amphotère est neutre et ne participe pas à la conduction électrique. Pour les acides aminés neutres on a

$$pH_i = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2). \qquad (2.17)$$

L'examen des propriétés électrochimiques des acides aminés prouve leur structure dipolaire (p. 24). Les chaleurs des réactions d'ionisation des acides organiques

$$RCOOH \rightleftharpoons RCOO^- + H^+$$

sont peu élevées, de l'ordre de 4 kJ/mol. Les chaleurs des réactions de dissociation des ions ammonium substitués

$$RN^+H_3 \rightleftharpoons RNH_2 + H^+$$

sont grandes : quelque 50 kJ/mol. Mis en solution acide, les acides aminés se caractérisent par des chaleurs d'ionisation allant de 5,5 à 8,8 kJ/mol, alors qu'en solution alcaline ces chaleurs varient entre 42 et 55 kJ/mol. On y a donc les réactions

$$H_3N^+ - CHR - COO^- + H^+ \rightleftharpoons H_3N^+ - CHR - COOH$$

$$H_3N^+ - CHR - COO^- + OH^- \rightleftharpoons H_2N - CHR - COO^- + H_2O$$

Autres preuves de la structure dipolaire des acides aminés sont une forte élévation de ε, lorsqu'on les dissout dans l'eau, les densités et les points de fusion élevés des acides aminés solides, ce qui est dû à une interaction électrostatique forte.

En manipulant des substances biologiques, il est nécessaire de maintenir un pH constant. On assure la stabilisation du pH à l'aide de *solutions tampons*. En présence de sels neutres la dissociation des acides et des bases faibles ne dépend plus de la dilution. Soit une solution d'un acide faible HA et de son sel de sodium NaA. La constante d'équilibre de la réaction

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

s'écrit

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}, \qquad (2.18)$$

et, comme $[A^-] = [H^+]$,

$$[H^+] = \sqrt{K[HA]}. \qquad (2.19)$$

En présence du sel NaA qui est beaucoup plus dissocié que l'acide, $[A^-] \approx [NaA]$. Par conséquent,

$$K = \frac{[H]^+[NaA]}{[HA]} \qquad (2.20)$$

et

$$[H^+] = K\frac{[HA]}{[NaA]}; \qquad (2.21)$$

$[H^+]$ et, donc, le pH dépendent du rapport des concentrations de l'acide et du sel, mais non pas du degré de dilution. Ainsi, pour une solution 0,1N d'acide acétique et 0,1N d'acétate de sodium dans l'eau, pH = 4,628. Pour une solution 10 fois plus diluée pH = = 4,670, pour une dilution centuple pH = 4,73. Un litre d'eau additionné de 1 cm^3 de solution 0,01N de HCl, voit son pH diminuer de 7 jusqu'à 5. En ajoutant la même quantité de HCl à la solution ci-dessus, le pH diminue de 4,628 jusqu'à 4,540. A côté des tampons à acétates on utilise des tampons à phosphates et autres.

§ 2.4. Composition et structure primaire des protéines

Les macromolécules protéiques sont composées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques constituées de résidus acides aminés. A une des extrémités de la chaîne (extrémité N) on trouve le groupe NH_2, à l'autre (extrémité C) le groupe COOH. Les masses moléculaires (MM) caractéristiques d'une chaîne polypeptidique d'une protéine sont de l'ordre de 20 000, ce qui correspond à 150-180 résidus (la masse moléculaire moyenne d'un résidu acide aminé est égale

à 120). Une molécule contenant moins de 100 résidus n'est plus, par convention, une protéine, mais un polypeptide. C'est le cas de certaines hormones.

La liaison peptidique —CO—NH— qui joint les résidus acides aminés dans les protéines a une structure plane spécifique, comme cela a été démontré par radiocristallographie (Pauling et Corey). Les quatre atomes participant à la liaison se trouvent dans un même plan (fig. 2.1). La liaison N—C y est plus courte que la même liaison dans les amines aliphatiques $R—NH_2$, où elle est longue de 0,147 nm. Ce raccourcissement, ainsi que la disposition plane des liaisons, témoignent de la conjugaison des liaisons N—C et C=O, du recouvrement de leurs couches électroniques, accompagné d'un déplacement de la densité électronique de N vers C. On peut le représenter en tant que contribution de la structure

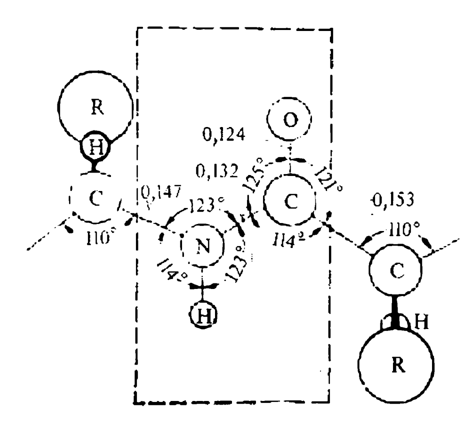


Fig. 2.1. Liaison peptidique

O^-
|
C
$\diagdown\overset{+}{N}\nearrow\diagdown H$
|
H

ce qui veut dire que la liaison N—C est en partie double et la liaison C=O en partie simple.

Aujourd'hui on identifie les acides aminés composant une protéine à l'aide d'appareils automatiques. La protéine est décomposée en acides aminés par *hydrolyse*, réaction inverse de la polycondensation:

$$—CHR_1—NH—CO—CHR_2— + H_2O \rightarrow —CHR_1—NH_2 + $$
$$+ HOOC—CHR_2—$$

L'hydrolyse se produit sous l'action de bases, d'acides ou d'enzymes protéolytiques (*protéases*) qui catalysent la rupture des liaisons peptidiques. L'hydrolysat qui en résulte (mélange d'acides aminés en solution) est soumis à l'*analyse chromatographique*. Signalons que l'hydrolyse protéolytique a lieu au cours de la digestion: les protéines de la nourriture sont décomposées, dans le canal digestif, en acides aminés qui servent à construire d'autres protéines, dont l'organisme a besoin.

La composition des protéines n'est pas homogène: différents résidus acides aminés y sont plus ou moins fréquents. Il y a des résidus que l'on rencontre souvent et d'autres qu'on ne trouve que rare-

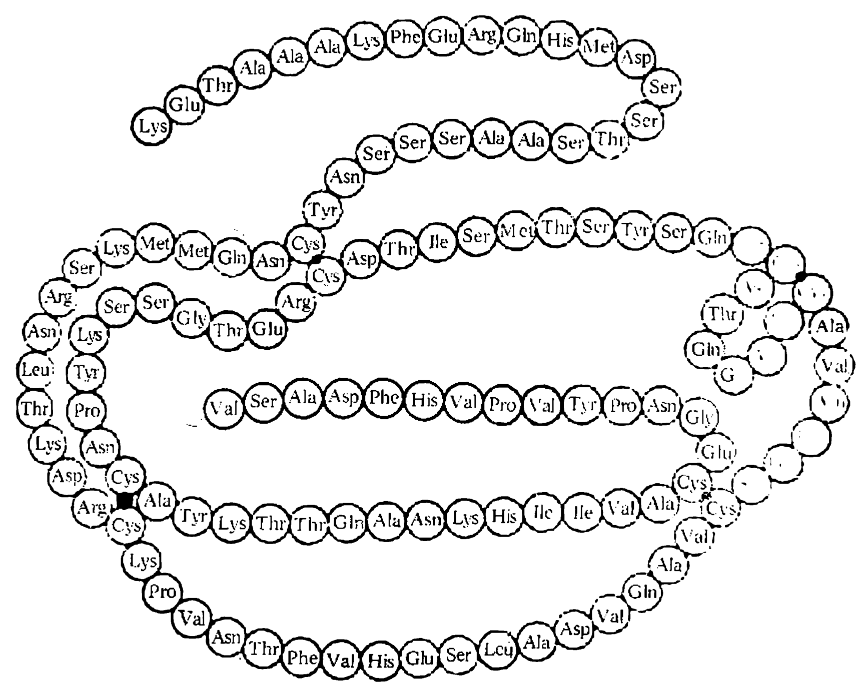


Fig. 2.2. Structure primaire de la ribonucléase de bœuf

ment, de même que dans un texte il existe des lettres rares (telle f) et fréquentes (a). Les résidus les plus rares sont Trp, Met, His, tandis que Ala, Ser, Gly sont les plus fréquents. Cela n'est vrai qu'en moyenne: certaines protéines spécialisées ont une composition spécifique qui diffère de la composition moyenne (c'est, notamment, le cas du collagène; v. § 4.9).

On appelle structure primaire d'une chaîne protéique l'ordre dans lequel y sont disposés les résidus acides aminés. On détermine la structure primaire par une hydrolyse partielle de la protéine à l'aide de protéases qui ne catalysent la rupture des liaisons peptidiques qu'entre certains résidus. Ainsi, la trypsine ne « coupe » que les liaisons formées par les groupes CO des résidus des amino-acides basiques: Arg ou Lys. On obtient alors un mélange de peptides: fragments courts de la chaîne protéique. Leur identification est effectuée au moyen de méthodes chimiques et physico-chimiques (chromatographie, spectroscopie de masse). En utilisant un second enzyme, on peut « couper » d'autres liaisons pour obtenir le mélange d'autres fragments (peptides), etc.

Connaissant la structure des peptides issus de l'hydrolyse par divers enzymes, on détermine la structure primaire d'une protéine

3—01676

```
1                                          10
Val—Leu—Ser—Glu—Gly—Glu—Trp—Gln—Leu—Val—Leu—His—Val—Tyr—Ala
30                                          20                |
Ile—Leu—Ile—Asp—Gln—Gly—His—Gly—Ala—Val—Asp—Ala—Glu—Val—Lys
|                                           40
Arg—Leu—Phe—Lys—Ser—His—Pro—Glu—Thr—Leu—Glu—Lys—Phe—Asp—Arg
60                                          50                |
Asp—Glu—Ser—Ala—Lys—Met—Glu—Ala—Glu—Thr—Lys—Leu—His—Lys—Phe
|                                           70
Leu—Lys—Lys—His—Gly—Val—Thr—Val—Leu—Thr—Ala—Leu—Gly—Ala—Ile
90                                          80                |
Ala—Leu—Pro—Lys—Leu—Glu—Ala—Glu—His—His—Gly—Lys—Lys—Lys—Leu
|                                           100
Gln—Ser—His—Ala—Thr—Lys—His—Lys—Ile—Pro—Ile—Lys—Tyr—Leu—Glu
120                                         110               |
Pro—His—Arg—Ser—His—Leu—Val—His—Ile—Ile—Ala—Glu—Ser—Ile—Phe
|                                           130
Gly—Asn—Phe—Gly—Ala—Asp—Ala—Gln—Gly—Ala—Met—Asn—Lys—Ala—Leu
150                                         140               |
Gly—Leu—Glu—Lys—Tyr—Lys—Ala—Ala—Ile—Asp—Lys—Arg—Phe—Leu—Glu
|      153
Tyr—Gln—Gly
```

Fig. 2.3. Structure primaire de la myoglobine de cachalot

en résolvant des problèmes qui rappellent les mots croisés. A ce jour on connaît la structure primaire de plusieurs centaines de protéines. Ces renseignements sont publiés de façon systématique dans l'atlas des structures protéiques. Les figures 2.2 et 2.3 représentent les structures primaires de la ribonucléase de bœuf et de la myoglobine de cachalot. Dans le premier cas on trouve quatre liaisons disulfure qui assurent la jonction entre les résidus Cys.

La *structure primaire d'une protéine* est une sorte de texte écrit à l'aide d'un alphabet de 20 lettres. Le sens, le contenu de ce texte consiste dans le fonctionnement biologique de la protéine, ce fonctionnement étant déterminé, au bout du compte, par la structure primaire. C'est toute l'évolution biologique qui est empreinte dans les textes protéiques: la comparaison des protéines homologues remplissant la même fonction chez des espèces différentes permet de mettre en évidence les écarts existant dans ces textes. Ces écarts, dus aux substitutions par mutation de divers résidus acides aminés, sont d'autant plus importants que les espèces biologiques sont plus éloignées les unes des autres. C'est le cytochrome *c*, protéine de la chaîne respiratoire commune à tous les organismes, qui est le mieux étudié sous ce rapport. La comparaison des structures primaires des cytochromes *c* des différentes espèces permet de construire l'arbre de l'évolution.

La structure primaire d'une protéine appartenant à une espèce donnée peut également changer par mutations. Cela conduit aux

« coquilles » fâcheuses dans le texte protéique qui ont souvent un effet néfaste sur la fonction de la protéine. Quelques maladies héréditaires du sang sont liées aux mutations de l'hémoglobine. Une affection grave, l'anémie drépanocytaire, est provoquée par la substitution de Val à Glu sur le sixième site des chaînes β de l'hémoglobine. L'hémoglobine humaine est constituée de quatre chaînes: deux chaînes α comportant chacune 141 résidus et deux chaînes β où il y a 146 résidus. Ainsi, le remplacement de seulement deux résidus sur 574 est lourd de conséquences fâcheuses. Dans ce cas des résidus neutres non polaires sont remplacés par des résidus acides. On connaît à ce jour plus de 100 hémoglobines humaines ayant subi une mutation.

§ 2.5. Acides nucléiques

La seconde variété importante des biopolymères est représentée par les acides nucléiques, macromolécules responsables de la biosynthèse des protéines, de l'assemblage de leurs structures primaires.

La chaîne principale d'un acide nucléique est constituée de motifs alternants d'acide phosphorique et d'un sucre (glucide): le ribose dans l'acide ribonucléique (ARN) et le désoxyribose dans l'acide désoxyribonucléique (ADN). Chaque glucide de la chaîne porte une des quatre bases azotées. L'ADN et l'ARN sont des textes écrits à l'aide de quatre lettres. Le schéma général de la chaîne a la forme suivante (P — phosphate):

```
   Base azotée       Base azotée       Base azotée
        |                 |                 |
  —Glucide—      P—Glucide—       P—Glucide—
```

Voici les formules structurales du ribose et du désoxyribose:

HO—$\overset{5}{C}H_2$; O ; OH ; $\overset{4}{C}$* ; $\overset{1}{C}$* ; H ; H ; H ; $\overset{3}{C}$* ; $\overset{2}{C}$* ; H ; OH ; OH

D-ribose

HO—CH_2 ; O ; OH ; C* ; C* ; H ; H ; H ; C* ; C ; H ; OH ; H

2-désoxy-D-ribose

La seule différence entre les deux structures est le remplacement du groupe OH par H sur le carbone en position 2. On a marqué d'astérisques les carbones asymétriques (v. § 2.7).

Les bases azotées sont les dérivés de la pyrimidine et de la purine, composés hétérocycliques azotés:

```
      CH                       CH
  N1 ⁶  5CH               N1 ⁶  5C——N7
  |      ||               |      ||    \
  HC2 3 4CH               HC2 3 4C——9  8CH
      N                       N      NH
  Pyrimidine                  Purine
```

Les acides nucléiques comportent les pyrimidines, la cytosine (C) et la thymine (T) dans les ADN, la cytosine et l'uracile (U) dans les ARN, ainsi que deux purines, l'adénine (A) et la guanine (G) dans les ADN comme dans les ARN:

```
      NH2              OH                 OH
      |                |                  |
      C                C                  C
    //  \            //  \              //  \
   N    CH          N    C—CH3         N    CH
   |    ||          |    ||            |    ||
   C    CH          C    CH            C    CH
  / \\  /          / \\  /            / \\  /
HO   N           HO   N             HO   N
   Cytosine         Thymine            Uracile

      NH2                    OH
      |                      |
      C   N                  C   N
    // \ / \\              // \ / \\
   N    C    CH           N    C    CH
   |    ||   /            |    ||   /
   HC   C   /       H2N — C    C   /
    \\ / \ /               \\ / \ /
     N    NH                N    NH
     Adénine                Guanine
```

Outre ces bases canoniques on trouve dans les ADN et dans les différents ARN, en quantités bien moindres, des bases dérivées (mineures): la 5-méthylcytosine, la 5-oxyméthylcytosine, l'hypoxanthine (la guanine sans son groupe NH_2 que nous désignerons par I) et la xanthine (la guanine, dont le groupe NH_2 est remplacé par OH).

Les pyrimidines et les purines ont un caractère basique: leurs azotes sont aptes à fixer des protons en se chargeant positivement.

Toutes les bases azotées mentionnées sont caractérisées par le phénomène de *tautomérie*: elles peuvent présenter plusieurs formes tautomères qui résultent du passage des hydrogènes hydroxyliques

sur les atomes d'azote. Voici les tautomères de l'uracile:

```
      OH              OH             OH
      |               ||             |
      C               C              C
    //  \           /   \          //  \
   N     CH       HN     CH       N     CH
   |     ||   ⇌   |      ||   ⇌   |     ||
   C     CH       C      CH       C     CH
  / \\  /       //  \   /       //  \   /
HO    N        O     NH        O     NH
```

L'équilibre dynamique des tautomères qui est fonction de la température est déplacé, dans les conditions normales, vers la forme cétonique.

On suppose que les bases azotées s'étaient formées au cours des premières étapes de l'évolution prébiologique, probablement à partir de l'acide cyanhydrique HCN. Voici un schéma possible de la synthèse primaire de l'adénine:

```
                 NH           H2N      C≡N        H2N      C≡N
                 ||              \    /              \    /
     +HCN        CH    +HCN        CH      +HCN        C
HCN ------>      |    ------>      |      ------>      ||      ------>
                 C≡N               C≡N                 C
                                                     /   \
                                                  H2N     C≡N

             H2N      C≡N
                \    /
                  C
------>           ||            +HCN
                  C            ------> Adénine (HCN)5
                /   \
             N≡C     NH2
```

L'origine métabolique des purines dans les organismes contemporains est représentée sur le schéma suivant:

```
                CO2          Gly
                 |      
                 C          N
   Asp -->   //     \     //  \
            N         C        C <-- Form.
            |         ||
            C         C
 Form. -->    \\    /    \
                N          N
                ^          ^
                       Azote amidique
                           Glu
```

Form. — acide formique HCOOH. L'origine primaire du ribose est liée à l'aldéhyde formique H_2CO.

Les composés que les bases azotées forment avec le ribose et le désoxyribose portent le nom de *nucléosides*: respectivement, ribonucléosides et désoxyribonucléosides. Les noms des nucléosides sont

cytidine, thymidine, uridine, adénosine et guanosine. Le mode de liaison entre la base azotée et le glucide est montré par la figure 2.4. Les nucléosides phosphorylés en positions 5′ et 3′ du glucide sont appelés nucléoside-3′ (ou 5′)-phosphates ou *nucléotides*.

Un acide nucléique se forme par polycondensation de nucléoside-triphosphates CTP, etc. L'introduction dans la chaîne de chaque

Fig. 2.4. Chaîne d'ADN

nouveau nucléotide s'accompagne de la formation d'une liaison phosphate internucléotidique et de la libération d'une molécule de diphosphate : l'acide pyrophosphorique

$$\mathrm{CTP} + \mathrm{GTP} \rightarrow \mathrm{CMP{-}GMP} + H_4P_2O_7$$

(TP est le triphosphate, MP le monophosphate). La figure 2.4 montre la structure de la chaîne de l'ADN. La chaîne de l'ARN a une structure analogue (seulement, on y trouve U à la place de T et le groupe OH en C-2 du ribose y est remplacé par H).

La composition nucléotidique de l'ADN est soumise à la *règle de Chargaff*: la teneur en A est égale à la teneur en T et la teneur en C est égale la teneur en G:

$$\frac{A+G}{T+C} \approx 1.$$

Ainsi, dans les ADN le nombre des purines est égal au nombre des pyrimidines. Parallèlement,

$$\frac{T+G}{C+A} \approx 1,$$

ce qui veut dire que dans les bases des ADN il y a autant de groupes NH_2 en 6 que de groupes C=O en même position. Mais le rapport

$$\frac{G+C}{A+T} \approx \frac{G}{A} \approx \frac{C}{T}$$

diffère de l'unité. Il varie très considérablement chez les bactéries (entre 0,45 et 2,8), alors que chez les animaux supérieurs et les plantes il est de l'ordre de 0,45. La spécificité de la composition nucléotidique des ADN a été étudiée en détail par Bélozerski et son école. La spécificité est traduite non seulement par la teneur relative en G + C, mais aussi par la teneur en bases mineures.

Les ARN n'obéissent pas à la règle de Chargaff. Le rapport (G + C)/(A + U) présente des variations très larges chez tous les organismes.

L'ADN — matière des gènes — est contenu dans les chromosomes et les mitochondries des cellules, ainsi que dans les bactériophages. Les masses moléculaires des ADN atteignent 10^9: ce sont les plus grosses molécules connues. Les ARN sont présents, sous différentes formes, dans le noyau et dans le cytoplasme des cellules, dans les virus et les phages. Il existe quatre types d'ARN: ARN haut-moléculaires, dont les ARN ribosomaux (ARNr), d'une masse moléculaire de l'ordre de 10^6, et les ARN matriciels ou messagers, ARNm, de masse moléculaire 30 000 et plus. Comme la masse moléculaire moyenne d'un ribonucléotide vaut 224, les plus courtes chaînes d'ARNm renferment quelque 150 nucléotides. Le troisième type est celui des ARN de transfert (ARNt), dont la masse moléculaire est de l'ordre de 20 000 et qui renferment près de 80 nucléotides. Enfin, les ARN viraux haut-moléculaires constituent le quatrième type.

On dispose aujourd'hui d'excellentes méthodes de détermination de la structure primaire (la séquence des nucléotides) des ARN et ADN. On connaît bien la structure primaire des différents ARNt et on a pu déchiffrer les « textes » de quelques gènes (segments d'ADN). Qui plus est, certains gènes ont déjà été synthétisés (la première synthèse de ce genre a été effectuée par Khorana en 1970).

§ 2.6. Adénylates

Les nucléosides phosphorylés monomères jouent un rôle extrêmement important dans le métabolisme et la bioénergétique, dans la régulation de l'activité vitale au niveau moléculaire. C'est une manifestation frappante de l'unité chimique du monde vivant (p. 23), de l'utilisation multiforme, par les cellules, des mêmes substances. C'est l'adénosine qui présente un intérêt particulier parmi les nucléosides. On a représenté sur la figure 2.5 la structure de l'adénosine-5′ mono, di et triphosphate (AMP, ADP, ATP). L'ATP est, dans la cellule, le principal accumulateur d'énergie chimique. Cette énergie est libérée lors du détachement hydrolytique du phosphate

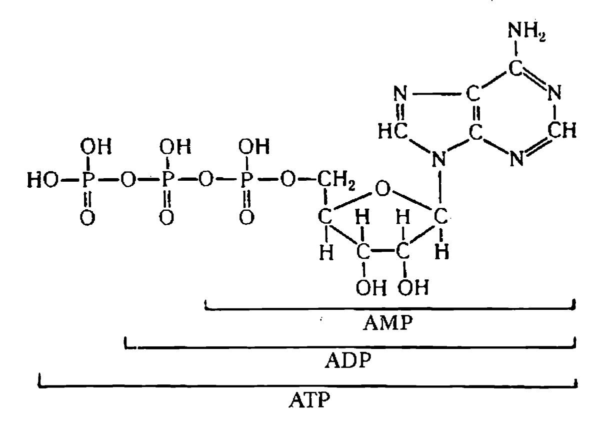


Fig. 2.5. Adénosine mono, di et triphosphate

inorganique en γ par la réaction ATP $\rightarrow$ ADP $+ P_i$ (P_i est l'acide phosphorique H_3PO_4). L'énergie de l'ATP couvre tous les besoins de la cellule: biosynthèse des protéines, transport actif des substances à travers la membrane, production du travail mécanique et électrique, etc. L'ATP libère par détachement de son phosphate l'énergie libre $\Delta G^0 = 30{,}7$ kJ/mol. L'énergie libre des autres nucléoside-triphosphates, avant tout du guanosine-triphosphate (GTP), est utilisée plus rarement. Il va de soi que dans toutes les réactions utilisant l'énergie de l'ATP on voit intervenir des enzymes, les adénosine-triphosphatases, parfois sous le contrôle de petits ions. « La recharge d'accumulateur » (la réaction inverse ADP $+ P_i \rightarrow$ ATP) se produit dans les processus de glycolyse, au cours de la photosynthèse et de la respiration (phosphorylation oxydative). Dans tous ces processus il y a oxydation et réduction des coenzymes importants NAD et NADP (nicotinamide-adénine-dinucléotide et NAD-phosphate). Le NAD et le NADP sont eux aussi des adénylates, dérivés

de l'adénine. La figure 2.6 montre les transformations mutuelles du NAD et du NADH par la réaction NADH + $H^+ \rightleftarrows$ 2H + NAD (la fèche indique l'hydroxyle estérifié par le phosphate en NADP et NADPH).

Le métabolisme de nombreux composés n'est possible que s'ils sont transformés en dérivés activés du coenzyme A (CoA). Le plus

Fig. 2.6. Nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD)

important de ces dérivés est l'acétylcoenzyme A (acétyl-CoA), représenté sur la figure 2.7. L'acétyl-CoA sert à transporter les groupes acétyle, de même que l'ATP transporte les groupes phosphate. La

Fig. 2.7. Acétylcoenzyme A

structure du CoA est voisine de celle de l'ATP. La liaison thioester —CH_2—S—CO—, de même que les liaisons phosphate aux extrémités de l'ATP et de l'ADP, est énergétique, exergonique : une liaison dont la rupture fournit de l'énergie libre. La valeur de ΔG^0 pour

l'hydrolyse de l'acétyl-CoA (acétyl-CoA + $H_2O \rightarrow$ acide acétique + CoA-SH) est de —31,5 kJ/mol.

Une fonction régulatrice particulièrement importante est remplie par encore un adénylate, l'*adénosine-monophosphate cyclique* (AMPc) qui contrôle les réactions enzymatiques dans les cellules qui accumulent les sucres et les corps gras. D'autre part, l'AMPc régule la transcription des gènes (biosynthèse de protéines) et joue le rôle d'intermédiaire universel pour l'action de certaines hormones, dont l'adrénaline (fig. 2.8). Cet adénylate est présent dans les cellules en quantités inférieures de trois ordres à celles de l'ATP ; l'AMPc, issue de l'ATP, se transforme à son tour en AMP non cyclique inerte. Ces faibles quantités d'AMPc sont quand même supérieures de 2 ou 3 ordres à la quantité de l'hormone et assurent une amplification plus que centuple du signal hormonal extérieur agissant sur la cellule.

Fig. 2.8. Adénosine monophosphate cyclique

§ 2.7. Chiralité des molécules biologiques

La majorité écrasante des molécules plus ou moins complexes comportant plus de trois atomes n'ont ni plan ni centre de symétrie. Ces molécules sont dissymétriques, chirales. Le terme *chiralité* (du grec *kheir*, main : cf. chirurgie, chiromancie) désigne la non-coïncidence d'une structure avec son image dans un miroir. Les substances chirales peuvent présenter deux formes: droite et gauche. Il est impossible de faire coïncider ces deux configurations, quelle que soit l'orientation du système entier dans l'espace ; elles sont l'une à l'autre ce que la main droite est à la main gauche (fig. 2.9).

Dans le monde moléculaire on a surtout affaire à la chiralité due aux carbones dits asymétriques (on les marque, d'habitude, d'un astérisque, v. p. 35). Dans les composés organiques saturés (aliphatiques), les quatre liaisons de valence du carbone forment entre elles des angles tétraédriques. Lorsque deux valences sur quatre lient des groupes identiques, comme c'est le cas dans la molécule CX_2YZ, le plan CYZ est un plan de symétrie et la chiralité est absente. Un atome de carbone est asymétrique, lorsque les quatre groupes auxquels il est lié sont différents: C*XYZV. Une telle molécule ne possède ni plan, ni centre de symétrie. La chiralité est donc inhérente à 19 acides aminés canoniques (à l'exception de la glycine $H_3N^+ \cdot CH_2 \cdot COO^-$). La figure 2.10 présente les configurations droite (*D*) et gauche (*L*) de l'alanine (*antipodes optiques* ou *énantiomères* ou encore *composés énantiomorphes*).

Une synthèse chimique partant de molécules symétriques conduit toujours à un *mélange racémique* qui comporte les proportions égales de l'antipode droit et de l'antipode gauche. Ce résultat découle du second principe de la thermodynamique : le racémique répond à l'entropie maximale du mélange.

Une propriété étonnante du monde vivant est le fait que les organismes ne fixent qu'une configuration déterminée de toutes les molécules biologiques importantes, en commençant par les acides aminés. Les protéines ne comportent que les formes *L* (« gauches ») des résidus acides aminés (fig. 2.10).

Les deux formes réagissent de façon identique avec les molécules symétriques. Ce qui les distingue, c'est l'interaction avec la lumière

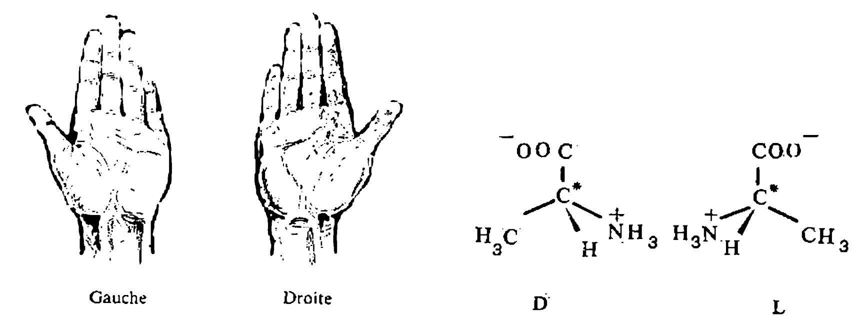


Fig. 2.9. La main droite et la main gauche

Fig. 2.10. Les configurations droite et gauche de l'alanine

polarisée. Les substances chirales, à la différence de leurs mélanges racémiques, font tourner le plan de polarisation de la lumière dans les sens opposés et absorbent différemment la lumière suivant qu'elle possède une polarisation circulaire droite ou gauche (v. Chapitre 6). Le nom des amino-acides biologiques *L* ne provient pas de ce qu'ils feraient tourner le plan de polarisation de la lumière vers la gauche, alors que les amino-acides *D* provoqueraient sa rotation vers la droite. Parmi les amino-acides *L* on trouve des lévogyres, ainsi que des dextrogyres. Le fait est que les composés organiques de la série *L* sont issus de l'aldéhyde glycérique lévogyre OCH—C*H(OH)—CH_2OH. Il est possible en principe d'en tirer tous les composés de la série *L* par substitution des atomes et des groupes correspondants liés à C*, sans modifier la configuration générale de la molécule.

La chiralité est propre aux protéines, aux glucides, aux acides nucléiques, ainsi qu'à une série de composés bas-moléculaires de la cellule. Les glucides des ADN et des ARN n'y figurent que sous la forme *D*. Les bases azotées sont planes et, donc, non chirales. Dans les processus métaboliques se déroulant sans racémisation (sans transformation des antipodes optiques l'un dans l'autre), la cellule n'as-

simile que ceux, auxquels répondent les structures de ses molécules biologiques. De deux types d'acides aminés, L et D, l'organisme n'assimile que le premier. Un organisme terrestre placé dans un « antimonde » où les plantes et les animaux seraient constitués des molécules des configurations inverses, mourrait de faim. L'organisme distingue les antipodes D et L. On connaît des substances, toxiques sous une des formes et anodines dans la forme inverse; l'acide L-aspartique est insipide, alors que son antipode a une saveur sucrée. Encore Pasteur signalait que certaines bactéries se nourrissaient de préférence d'un des antipodes d'une substance donnée.

In vitro, les antipodes purs sont isolés de leurs mélanges racémiques (la synthèse asymétrique) à l'aide de substances chirales d'origine biologique (ce sont normalement des alcaloïdes). En soumettant un mélange racémique (D, L) à l'action d'un composé L', on obtient $(D, L) + L' \rightarrow DL' + LL'$. Les composés DL' et LL' ne sont plus des énantiomères (le seraient les composés DL' et LD'). Les propriétés physiques et chimiques de DL' et LL' sont donc différentes, ce qui permet de les séparer, par exemple, par cristallisation.

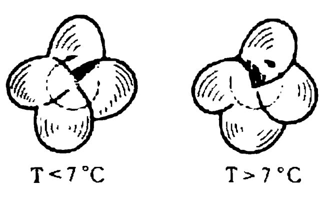


Fig. 2.11. Deux formes de la coquille du rhizopode *Neogloboquadrina pachyderma*

La séparation des antipodes requiert l'intervention d'une substance asymétrique ou d'un être sachant distinguer le côté droit et le côté gauche. Pasteur découvrit les antipodes optiques en 1848. En étudiant l'acide tartrique, il établit que ses cristaux avaient une forme « gauche » et une forme « droite ». En les triant, Pasteur obtint deux antipodes purs de l'acide tartrique. Il joua le rôle de facteur asymétrique : l'homme est « chiral » lui-même, il sait distinguer sa droite de sa gauche. La chiralité existe dans le monde vivant, aussi bien au niveau moléculaire qu'aux échelons supérieurs de son organisation. La cause première en est la régulation « chirale » des processus enzymatiques. On peut voir sur la figure 2.11 deux formes de la coquille du rhizopode *Neogloboquadrina pachyderma*. Les coquilles enroulées dans le sens des aiguilles d'une montre se forment à une température inférieure à 7 °C; celles qui sont enroulées dans le sens opposé, à une température plus élevée.

Dans la nature, la chiralité peut être moléculaire ou cristalline. La première se conserve, lorsque le corps est fondu ou dissous (c'est le cas du sucre), la seconde n'existe qu'à l'état cristallin. Le quartz, constitué de molécules symétriques SiO_2, se cristallise sous la forme droite ou gauche qui ont les activités optiques contraires. Lors de la fusion du quartz son activité optique disparaît. En moyenne, le nombre de cristaux gauches est égal à celui de cristaux droits pour tout gisement donné. Il est possible d'isoler l'un ou l'autre des anti-

podes à l'état pur par cristallisation, en introduisant dans le mélange racémique un germe non racémique droit ou gauche.

L'apparition et la fixation de la chiralité dans le monde vivant présentent un intérêt exceptionnel. On a vu échouer les tentatives d'expliquer ces faits par la faible polarisation circulaire de la lumière dispersée dans l'atmosphère terrestre ou par l'irradiation radioactive (compte tenu de la non-conservation de la parité dans les processus nucléaires). Ces phénomènes sont à considérer sous le jour de la théorie générale de l'évolution prébiologique qui enseigne que le désordre se transforme en ordre grâce à l'apparition d'information (Chapitre 17). Le choix d'un antipode correspond à la création d'une information égale à 1 bit par molécule de monomère. On a de bonnes raisons pour croire que la chiralité tire son origine de la fluctuation. L'écart fluctuationnel à la distribution racémique régulière peut augmenter de façon illimitée, si le système est autocatalytique (autoreproductible). Nous l'illustrerons par un calcul sur modèle. Soient x_1 et x_2 les nombres de molécules d'un polymère (du type ARN) constitué, respectivement, de monomères D et L, dont nous désignerons les quantités respectives par m_1 et m_2. Les polymères construisent leurs répliques avec les monomères: il y a autoreproduction matricielle. D'autre part, les polymères peuvent se décomposer. Les équations cinétiques décrivant le développement d'un tel système, ont la forme

$$\dot{x}_1 = ax_1w_1 - bx_1, \quad \dot{x}_2 = ax_2w_2 - bx_2, \tag{2.22}$$

où a et b sont les constantes de vitesse de la polymérisation et de la décomposition et

$$w_1 = \frac{m_1}{m_1+m_2}, \quad w_2 = \frac{m_2}{m_1+m_2} \tag{2.23}$$

sont les probabilités qu'ont les matrices 1 et 2 de rencontrer, respectivement, les monomères m_1 et m_2. A l'état stationnaire $\dot{x}_1 = \dot{x}_2 = 0$, d'où $w_1 = w_2 = b/a$ et, donc, $m_1 = m_2$, soit $w_1 = w_2 = 0{,}5$, $a = 2b$: le système est racémique. Un développement non banal du système est possible, lorsque $m_1 \neq m_2$ à cause d'une fluctuation. Supposons que

$$w_1 = 0{,}5 + \alpha, \quad w_2 = 0{,}5 - \alpha \tag{2.24}$$

et que $\alpha = \text{const}$. Alors le système (2.22) aura pour solution

$$\begin{aligned} x_1 &= x_1(0) \exp[(a/2 - b)t] \exp(a\alpha t), \\ x_2 &= x_2(0) \exp[(a/2 - b)t] \exp(-a\alpha t). \end{aligned} \tag{2.25}$$

Avec le temps la population x_1 devient dominante:

$$\frac{x_1}{x_2} = \frac{x_1(0)}{x_2(0)} \exp(2a\alpha t). \tag{2.26}$$

L'évolution biologique postérieure ne fait qu'affermir la chiralité. car de tels systèmes ont des avantages par rapport aux systèmes racémiques : ils interagissent avec l'environnement d'une façon plus spécifique, sachant distinguer la droite de la gauche.

§ 2.8. Glucides et lipides

La troisième variété des biopolymères embrasse les glucides ou les polysaccharides formés par l'union de nombreuses molécules d'oses (monosaccharides) qui ont à l'état libre la formule brute $C_6H_{12}O_6$. Les monosaccharides ont un rôle important à jouer dans le métabolisme des végétaux et des animaux ; c'est, particulièrement, le cas du *glucose* :

α-D-glucose β-D-glucose

Chacun des cinq carbones du cycle est asymétrique. Dans les cellules on trouve également des disaccharides $C_{12}H_{22}O_{11}$. Voici à titre d'exemple la formule structurale du saccharose (sucre de betterave ou de canne) :

Les polysaccharides les plus importants sont l'*amidon* sous ses deux formes (*amylose* et *amylopectine*) et la *cellulose* dans les plantes, la *chitine* chez les arthropodes, le *glycogène* dans les organismes animaux. La cellulose et la chitine forment la charpente, toutes sortes de structures de soutien et de protection. L'amidon et le glycogène servent à conserver le carbone et l'énergie chimique. La figure 2.12 montre un motif de l'amylose. A la différence de l'amylose, les chaînes de l'amylopectine (ainsi que celles du glycogène) sont ramifiées. Les polysaccharides ne renferment aucune information, aucun texte, leur structure est monotone. Les dimensions et le taux de ramification de ces macromolécules présentent des variations considérables.

La masse moléculaire de l'amylose de l'amidon de pommes de terre vaut près de 10^4 (200 motifs glucosiques), celle de l'amylopectine de l'amidon de riz atteint quelque $5 \cdot 10^5$ avec 80 à 90 ramifications. La masse moléculaire du glycogène des muscles est égale à 10^6 et de celui du foie à $5 \cdot 10^6$. La cellulose du coton a une masse moléculaire de l'ordre de $5 \cdot 10^5$.

Les polysaccharides jouent un rôle important dans les membranes extérieures de certaines cellules; ils figurent dans les membranes

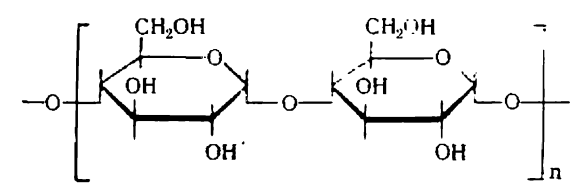


Fig. 2.12. Structure de l'amylose

cellulaires de nombreuses espèces bactériennes. Dans les membranes, les polysaccharides forment des complexes avec des protéines et des lipides.

La fonction la plus importante des corps gras ou lipides consiste à participer, dans tous les cas, à l'édification et au fonctionnement des

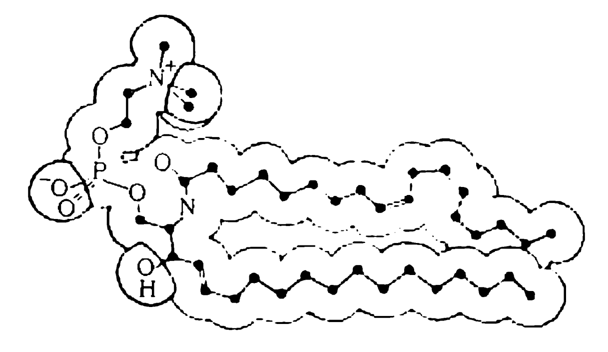


Fig. 2.13. Structure d'un lipide (la sphingomyéline)

membranes biologiques. Les corps gras naturels rangés dans la catégorie des lipides sont des triglycérides d'acides gras, i.e. leurs esters du glycérol, tel le triglycéride de l'acide stéarique $H_3C(CH_2)_{16}COOH$:

$$\begin{array}{l} CH_2-O-CO-(CH_2)_{16}CH_3 \\ | \\ CH-O-CO-(CH_2)_{16}CH_3 \\ | \\ CH_2-O-CO-(CH_2)_{16}CH_3 \end{array}$$

On voit que ces composés renferment des « queues » longues constituées par des radicaux hydrocarbonés non polaires et des « têtes » fortement polarisées avec les groupes —O—CO—. Les lipides fonctionnels des membranes cellulaires sont des composés plus complexes, dans lesquels on peut trouver des groupes glucides, amines ou alkylamines. Certains composés de grand intérêt appartiennent aux *phospholipides*. On a schématisé sur la figure 2.13 la structure du phospholipide sphingomyéline. Les lipides des membranes et les phospholipides ont, en règle générale, une « tête » très polaire et deux longues « queues » hydrocarbonées non polaires. Un détail essentiel pour leur fonction est la présence de doubles liaisons C=C non saturées dans les « queues ». Ces liaisons, absentes dans les lipides animaux, sont par contre présentes dans les corps gras végétaux. Le fonctionnement des lipides dans les membranes sera décrit dans le chapitre 10.

§ 2.9. Cofacteurs, vitamines, hormones

Le métabolisme dans son ensemble, ainsi que les propiétés particulières des biopolymères dans les cellules, sont sous le contrôle de petites molécules spécifiques appartenant à plusieurs groupes différents de composés organiques. Nous avons déjà mentionné, au § 2.6, les adénylates.

La plupart des enzymes fonctionnent sous forme de complexes avec des *cofacteurs* ou *coenzymes* de faible poids moléculaire. Le complexe entier est appelé *holoenzyme*, sa partie protéique *apoenzyme*. Les cofacteurs sont divers. Ainsi, en série aliphatique, on trouve des diphosphates de glucides et leurs dérivés aminés participant aux réactions de transport des groupes phosphate. Mentionnons également, toujours parmi les cofacteurs aliphatiques, l'acide lipoïque et le glutathion qui renferment du soufre.

L'acide ascorbique (la vitamine C) est un participant indispensable d'une série de processus d'oxydoréduction:

```
      CH2OH
       |
     HOCH  O
        \/  \
        C    C=O
       / \  /
      H   C=C
          |  |
         OH OH
```

Si les vitamines sont nécessaires, c'est justement parce qu'elles servent de cofacteurs ou bien se transforment en tels. Le rôle des

cofacteurs étant catalytique, l'organisme n'en a besoin qu'en faibles quantités.

Alors que les chaînes principales des protéines et des acides nucléiques, sans parler des polysaccharides, ne sont pas constituées par des liaisons π conjuguées, la plupart des principaux coenzymes sont des systèmes π-électroniques conjugués à cycles aromatiques ou hétérocycles. Tels sont, comme nous l'avons déjà vu, les adénylates. Les coenzymes flaviniques: le flavine-mononucléotide FMN et le flavine-adénine-dinucléotide FAD renferment un hétérocycle conjugué à trois anneaux, la riboflavine (la vitamine B_2). Ces coenzymes ont une coloration jaune orangé, car la riboflavine absorbe la lumière dans le domaine spectral visible. L'adénine entre également dans la composition des coenzymes cobamidiques liés à la cobalamine ou B_{12}. Le pyridoxal phosphate (PAL), dérivé de la pyridine, est le coenzyme des transaminases qui catalysent les transformations des acides aminés:

```
              H
               \
                C=O           OH
                |             |
     HO         C    CH2—O—P—OH
        \     //  \  /        ||
          C        C          O
          |        ||
          C        CH
        /   \\   /
     H3C       N
```

Un système π-électronique figure également dans le thiamine phosphate

```
             H
             C       CH2             CH3
          //   \   /     \+         /
        N        C         N——C
        |        ||        ||   ||
        C        C         HC   C             OH OH
      /   \\   /   \         \ /  \           |  |
  H3C        N       NH2      S    CH2CH2OPOPOPOH
                                            ||  ||
                                            O   O
```

La thiamine est la vitamine B_1.

Un système conjugué linéaire de liaisons π, de grande longueur, est contenu dans la matière colorante de la carotte, le β-*carotène* qui est la provitamine A. Sa variété, le *rétinal*, intervient directement dans l'acte primaire de la perception visuelle (Chapitre 14).

Un grand rôle dans quelques processus vitaux, y compris la photosynthèse, appartient aux systèmes π-électroniques conjugués des

4—01676

composés porphyriques, dérivés de la *porphine*

```
       H       H       H
       C       C       C
     /   \\  /   \\  /   \\
  HC       C       C       CH
    \\     |       |      /
      C — NH      N = C
     /                \
  HC                   CH
    \\                //
      C — N      HN — C
     /    ||      |     \
  HC      C       C      CH
    \\   /  \   //  \   //
      C       C       C
      H       H       H
```

Le noyau porphyrique est constitué par quatre hétérocycles pyrroliques pentagonaux. Ainsi que tous les autres systèmes conjugués, le noyau porphyrique est plan. Au centre de ce noyau on peut trouver un atome métallique complexé. Les enzymes cobamidiques mentionnés comportent une porphyrine avec Co comme atome central. Les chlorophylles, responsables de l'acte primaire de l'absorption de la lumière au cours de la photosynthèse, renferment une autre porphyrine, coordinée autour d'un atome de magnésium (v. § 14.1). Le groupement prosthétique dit hème — porpyrine à l'atome central Fe— est présent dans les protéines intervenant dans les processus respiratoires : dans les cytochromes (v. § 13.6), dans la myoglobine et l'hémoglobine (§ 6.7), ainsi que dans la leghémoglobine, protéine des bactéries des nodosités qui participe à la fixation de l'azote atmosphérique, et dans certains enzymes d'oxydoréduction. Le sang des crustacés renferme des porphyrines à Cu ; dans celui des ascidies il y a une « demi-porphyrine », complexe dipyrrolique de V.

Fig. 2.14. Hème (protohème IX)

La figure 2.14 présente la structure de l'hème de la myoglobine et de l'hémoglobine.

Le rôle des métaux et particulièrement celui des métaux de transition formant des complexes, est très grand en biologie. Un tiers environ de tous les enzymes connus de la science renferment des ions métalliques en qualité de cofacteurs. Comme on l'a déjà dit,

la photosynthèse est liée à Mg, ainsi qu'à Fe (cytochromes, ferredoxine); le stockage et le transport d'oxygène, les processus redox de transfert d'électrons sont également liés à l'hème. Des ions alcalins et alcalinoterreux participent à la biosynthèse des protéines, les ions Zn^{++} à la synthèse des acides nucléiques (dans les *polymérases*) et à d'autres processus enzymatiques. La conduction de l'influx nerveux est directement déterminée par le transport d'ions K^+ et Na^+ à travers les membranes, les processus mécanochimiques (telle la contraction musculaire) requièrent la participation d'ions Ca^{++} et Mg^{++}. Dans la nitrogénase, enzyme responsable de la fixation d'azote, figurent les atomes Mo. L'étude des substances et des processus biologiques mentionnés, ainsi que de certains autres, s'appuie sur la chimie minérale contemporaine. Les objets principaux de cette étude sont les complexes métalliques. La *chimie biominérale* qui s'est développée au cours des dernières décennies, tient une place de plus en plus importante en biologie et en biophysique.

Les *hormones* jouent un rôle de régulation et de signalisation dans les organismes pluricellulaires complexes. Les hormones des organismes animaux se subdivisent en deux grands groupes: protéines, polypeptides avec leurs dérivés et stéroïdes. Au premier groupe se rattachent la thyréoglobuline, protéine de la glande thyroïde, renfermant de la thyroxine iodée; l'insuline qui régule la teneur en sucre du sang; l'ocytocine qui provoque les contractions de l'utérus; la vasopressine régulant la pression sanguine, etc. Les hormones sont synthétisées dans les glandes endocrines; elles assurent la régulation au niveau de l'organisme. Les stéroïdes sont des composés qui renferment le squelette carboné du cyclopentanophénanthrène:

Les plus importantes hormones stéroïdiennes, les hormones sexuelles, sont œstrone, progestérone, testostérone, androstérone, ainsi que cortisone, hormone corticosurrénale.

Outre ces deux groupes il existe d'autres hormones bas-moléculaires. Nous mentionnerons l'adrénaline, hormone des glandes surrénales, qui augmente la pression artérielle et stimule l'activité du cœur:

```
   HO
     \    H
      C — C       OH
     //    \\     |
HO — C       C — CH — CH2 — NH — CH3
     \      /
      C = C
      H   H
```

L'activité hormonale dépend de la fonctionnalité chimique d'un nombre restreint de groupements atomiques. Les différences chimiques entre la testostérone et la cortisone sont minimes, mais leurs fonctions physiologiques sont tout à fait différentes. La structure et les propriétés des hormones démontrent l'importance biologique des structures moléculaires individuelles.

Les oligopeptides du cerveau des mammifères ont également un rôle important. Ces substances qui renferment un petit nombre de résidus acides aminés (tel l'undécapeptide H-Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-

Tableau 2.3

Composition chimique approximative des cellules d'*E. coli*

Substance	M. M. moyenne	Nombre de molécules dans la cellule	Nombre de types différents de molécules
H_2O	18	$10\cdot10^{10}$	1
Ions inorganipues (Na^+, K^+, Mg^{++}, Ca^{++}, Cl^-, PO_4^{3-}, CO_3^{-}, etc.)	40	$2{,}5\cdot10^8$	20
Glucides et leurs précurseurs	150	$2\cdot10^8$	200
Acides aminés et leurs précurseurs	120	$3\cdot10^7$	100
Nucléotides et leurs précurseurs	300	$1{,}2\cdot10^7$	200
Lipides et leurs précurseurs	750	$2{,}5\cdot10^7$	50
Autres petites molécules	150	$1{,}5\cdot10^7$	200
Protéines	$4\cdot10^4$	10^6	2 à $3\cdot10^3$
ADN	$2{,}5\cdot10^9$	4	1
ARN :			
ARNr 16S *)	$5\cdot10^5$	$3\cdot10^4$	1 (?)
ARNr 23S	10^6	$3\cdot10^4$	1 (?)
ARNt	$2{,}5\cdot10^4$	$4\cdot10^4$	40
ARNm	10^6	10^3	10^3

*) S = svedberg (v. p. 84).

-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH_2 qui agit comme la morphine) remplissent des fonctions diverses : parmi elles il y a des analgésiques, des stimulants de la mémoire et du sommeil.

Quelques neurotoxines que renferme le venin des serpents, des scorpions, etc., ont une nature polypeptidique. Ces substances bloquent la transmission synaptique de l'influx nerveux (v. § 11.5).

Le tableau 2.3 caractérise la diversité des substances fonctionnant dans la cellule bactérienne *Escherichia coli* (le colibacille).

§ 2.10. Principaux processus biochimiques

Toutes les substances que nous avons sommairement caractérisées ci-dessus interviennent dans les processus vitaux des différents organismes: processus, élaborés au cours de l'évolution biologique. Diverses biomolécules, grosses et petites, sont à la base de la biosynthèse, du métabolisme et de la bioénergétique.

Comme nous l'avons déjà dit, les acides nucléiques sont responsables de la biosynthèse des protéines. C'est en cela que consiste leur unique fonction « législative ». A leur tour les « exécutants » — les protéines — participent immanquablement à tous les processus biochimiques en tant que catalyseurs — enzymes.

L'énergie nécessaire pour pouvoir réaliser la biosynthèse et le métabolisme est mise en réserve dans les cellules sous une forme chimique, principalement dans la troisième et la deuxième liaison phosphate, exergonique, de l'ATP. Les processus bioénergétiques de métabolisme ont donc pour résultat la « recharge d'accumulateur »: synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique. Cela a lieu au cours des processus respiratoires et de fermentation. Les organismes d'aujourd'hui portent l'empreinte de l'évolution ayant commencé il y a près de $3,5 \cdot 10^9$ ans. Il y a de bonnes raisons pour croire que la vie apparut sur la Terre en l'absence d'oxygène libre (voir § 17.1). Les processus métaboliques faisant intervenir l'oxygène (c'est avant tout la phosphorylation oxydative lors de la respiration) sont relativement peu nombreux et plus récents, du point de vue de l'évolution, que les processus anaérobies. En l'absence d'oxygène la combustion (oxydation) complète des molécules organiques des substances nutritives est impossible. Néanmoins, les propriétés des cellules anaérobies actuelles montrent que même dans ces conditions l'énergie nécessaire pour la vie résulte de processus d'oxydo-réduction. Dans les systèmes aérobies l'accepteur final (oxydant) de l'hydrogène est O_2; en anaérobiose ce rôle est rempli par d'autres substances. L'oxydation sans O_2 se réalise dans deux formes de la fermentation: la glycolyse et la fermentation alcoolique. La *glycolyse* consiste en une dégradation à étapes multiples des hexoses (tel le glucose) jusqu'à deux molécules de pyruvate (acide pyruvique) comportant chacune trois atomes de carbone. Au cours de ce processus deux molécules de NAD se réduisent en NADH et deux molécules d'ADP sont phosphorylées donnant deux molécules d'ATP. Le pyruvate donne le lactate (acide lactique) par la réaction inverse NADH $\rightarrow$ NAD + H. Lors de la fermentation alcoolique le pyruvate fournit de l'alcool éthylique. Parallèlement il y a dégagement de CO_2. Les réactions globales sont les suivantes (P — phosphate):

$$C_6H_{12}O_6 + 4NAD + 2ADP + 2P \rightarrow \underset{\text{pyruvate}}{2H_3C \cdot CO \cdot COOH} + 4NADH + 2ATP$$

$$2H_3C\cdot CO\cdot COOH+4NADH \rightarrow \underset{\text{lactate}}{2H_3C\cdot CH(OH)\cdot COOH}+4NAD$$

$$2H_3C\cdot CO\cdot COOH+4NADH \rightarrow 2C_2H_5OH+2CO_2+4NAD$$

Les deux fermentations (glycolytique et alcoolique) comportent un stade secondaire (voie des pentoses) avec production de pentoses-phosphates, où on assiste à la décomposition d'eau et, aussi, au dégagement de CO_2.

C'est la présence de CO_2 dans l'environnement qui a rendu possible la *photosynthèse*. La photosynthèse bactérienne, puis la photosynthèse des végétaux verts se développèrent il y a environ 3 à $2\cdot 10^9$ ans. La photosynthèse consiste à absorber la lumière et à transformer son énergie en énergie chimique des molécules biologiques. Il a fallu pour cela des composés absorbant la lumière, particulièrement, des composés à cycles porphyriques : la chlorophylle et les cytochromes. Lorsque la chlorophylle absorbe des quanta de lumière, les électrons du système passent aux niveaux d'énergie plus élevés. Ensuite c'est la chaîne de transfert d'électrons qui entre en jeu : elle est principalement composée de cytochromes, enzymes oxydoréducteurs. L'énergie, accumulée initialement dans la chlorophylle, se dégage sous une forme biologiquement utile (ATP et NADP). Il y a photophosphorylation.

Probablement, à un stade plus avancé de l'évolution apparaît la réduction photosynthétique de CO_2 en glucides. Dans ce cas les procaryotes (photosynthèse bactérienne) tirent H des différentes molécules et les plantes vertes de H_2O. L'oxygène se dégage vers le milieu ambiant. Son accumulation dans l'atmosphère est le résultat de la photosynthèse. La réaction globale s'écrit :

$$6CO_2+12H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6+6H_2O+6O_2$$

Il y a près de 1,5 à $2\cdot 10^9$ ans la pression partielle d'O_2 dans l'atmosphère atteignit 0,02 à 0,20 % de son niveau actuel. C'est alors que se forma le métabolisme aérobie, la respiration. La respiration cellulaire s'accompagne d'une série de processus interdépendants de synthèse de molécules biologiques indispensables pour la vie, ainsi que de la « recharge » de l'ATP (phosphorylation oxydative). Les molécules des substances nutritives « se consument », s'oxydent en CO_2 et H_2O, O_2 servant d'accepteur terminal d'hydrogène. La libération de l'énergie chimique à partir de la nourriture se produit, sommairement, en trois phases. D'abord il y a décomposition des macromolécules et des molécules lipidiques. Les proteines se transforment en aminoacides, les glucides (amidon, glycogène) en hexoses, les corps gras en glycérol et acides gras. Toutes ces substances fournissent, au cours de la deuxième phase, l'acétyl-coenzyme A (p. 41), l'α-cétoglutarate et l'oxalo-acétate. La troisième phase est le *cycle de Krebs* (cycle des citrates). Le cycle de Krebs débute par la réaction

de l'oxalo-acétate sur l'acétyl-CoA ; le même oxalo-acétate est régénéré au cours du cycle. Certaines réactions du cycle qui remplit une fonction catalytique s'accompagnent de transfert d'atomes H sur les NAD ou sur les flavoprotéines. Deux électrons transportés de NADH sur O_2 correspondent à trois molécules d'ATP synthétisées (*phosphorylation oxydative*). Ce transfert d'électrons se réalise dans la chaîne respiratoire. Le passage de la première phase à la deuxième s'accompagne de dégagement de CO_2 ; le transfert d'électrons du NADH sur O_2 conduit à la formation de H_2O. Le bilan global du processus de respiration aérobie est le suivant :

$$C_6H_{12}O_6+6H_2O+6O_2+36ADP+36P \rightarrow 6CO_2+12H_2O+36ATP.$$

La respiration est beaucoup plus efficace que la glycolyse. Si, au cours de cette dernière, la variation de l'énergie libre par mole de glucose n'est que de 197 kJ, cette variation atteint 2880 kJ dans le cas de la respiration.

Les processus complexes de métabolisme, d'accumulation et de consommation d'énergie sont localisés dans les cellules. La respiration se réalise dans les membranes des mitochondries, la photosynthèse dans les membranes des chloroplastes. Les processus biochimiques présentent une adaptation due aux conditions de l'évolution. Ainsi, les animaux des déserts et les oiseaux tirent l'essentiel de l'énergie métabolique des corps gras et non pas du glycogène. Dans le désert il faut non seulement assurer le rendement maximal en énergie, mais aussi obtenir le plus d'eau : or, l'oxydation des corps gras fournit deux fois plus d'eau que celle du glycogène. Ce qui compte pour les oiseaux, c'est la masse moins élevée de la graisse. La masse du glycogène avec son eau liée est 8 fois plus élevée que celle de la graisse donnant par oxydation la même quantité d'énergie.

Toutes les voies du métabolisme sont examinées et schématisées en détail dans les cours de biochimie. Nous reparlerons de la respiration et de la photosynthèse au chapitre 13 (consacré à la bioénergétique) et au chapitre 14 (phénomènes photobiologiques).

§ 2.11. Interactions fortes et faibles

Les interactions des atomes dans les molécules biologiques, ainsi que dans les molécules des composés organiques de synthèse, se présentent avant tout sous la forme de liaisons chimiques covalentes que nous appellerons fortes. L'énergie de rupture d'une liaison C—C est égale à 348,6 kJ/mol, celle de la liaison C—N à 336 kJ/mol, etc. Les interactions fortes déterminent la structure en chaîne des biopolymères, la jonction des monomères correspondants : résidus acides aminés, nucléotides, hexoses. Les liaisons fortes sont formées par les électrons périphériques des atomes ; la théorie de liaisons covalentes ne peut être fondée que sur la mécanique quantique. Le domaine

correspondant de la physique ou de la chimie théorique est dénommé *chimie quantique.*

Au cours des réactions biochimiques, catalysées par les enzymes, on assiste à la réorganisation des liaisons chimiques et à celle des couches électroniques.

Toutefois, les molécules biologiques ne pourraient fonctionner et la vie n'existerait pas sous les formes que nous lui connaissons, s'il n'y avait pas, en plus des interactions fortes, les interactions faibles, non chimiques et non valentielles à l'intérieur des molécules biologiques et entre celles-ci. Les cellules et leurs organites sont des systèmes hétérogènes, dont l'existence et le fonctionnement sont déterminés par les interactions intermoléculaires qui ne sont pas de valence. Les agents de presque toutes les fonctions moléculaires dans les cellules — les protéines — interagissent avec les lipides et les glucides, les acides nucléiques et les petites molécules. Ces interactions sont de préférence faibles, car les interactions fortes donneraient lieu à des structures trop rigides et stables, dépourvues de mobilité moléculaire qui permet aux molécules biologiques de remplir leurs tâches diverses, dont la régulation fine des réactions chimiques, la compartimentation, la création des gradients de concentration. Nous caractériserons ci-après les types des interactions faibles intervenant dans les systèmes biologiques.

1. *Liaisons ioniques.* Les forces d'interaction entre ions sont régies par la loi de Coulomb. L'énergie d'interaction de deux ions à charges e_1 et e_2 est donnée par

$$U_{\text{ion}} = \frac{e_1 e_2}{\varepsilon r}, \tag{2.27}$$

où r est la distance séparant les ions, ε la constante diélectrique ou la permittivité. Les charges de signes contraires s'attirent, $U_{\text{ion}} < 0$; les charges de même signe se repoussent, $U_{\text{ion}} > 0$. Des liaisons ioniques se forment, par exemple, entre les groupes ionogènes des protéines (tels Glu^-, Lys^+), entre ces groupes et les petits contre-ions, entre les groupes phosphate des acides nucléiques et les cations, etc.

2. *Interactions ion-dipôle* entre ions et groupes polaires des molécules. Ces interactions sont fonction de la charge de l'ion et du moment dipolaire du groupement atomique concerné.

3. *Forces d'orientation.* Interactions électrostatiques entre dipôles. Le moment dipolaire p d'une petite molécule ou d'un groupement atomique a le même ordre de grandeur que le produit de la charge de l'électron ($4{,}8 \cdot 10^{-10}$ u.e.s.) par la longueur de liaison chimique (près de 10^{-8} cm). L'unité de moment dipolaire, dite debye (D), vaut 10^{-18} u.e.s. Les dipôles ont tendance à s'orienter de façon antiparallèle ou bien « bout à bout ». L'énergie de l'interaction d'orientation de deux dipôles est inversement proportionnelle au cube de la dis-

tance qui les sépare:

$$U_{\text{or}} = \frac{1}{r^3}\left\{\boldsymbol{p}_1\boldsymbol{p}_2 - \frac{3(\boldsymbol{p}_1\boldsymbol{r})(\boldsymbol{p}_2\boldsymbol{r})}{r^2}\right\}. \tag{2.28}$$

Lorsque deux dipôles sont disposés l'un derrière l'autre, tous les trois vecteurs ($\boldsymbol{p}_1$, $\boldsymbol{p}_2$ et $\boldsymbol{r}$) étant colinéaires, il vient

$$U_{\text{or}} = -\frac{2p_1p_2}{r^3}. \tag{2.29}$$

Lorsque les molécules dipolaires sont soumises à une agitation thermique dans le gaz ou dans le liquide, l'expression (2.28) doit subir un moyennage suivant toutes les orientations réciproques des dipôles et en prenant en considération le facteur de Boltzmann exp $(-U/kT)$. A une température suffisamment élevée, lorsque $U \ll kT$, le moyennage donne

$$U_{\text{or}} = -\frac{2p_1^2p_2^2}{3kTr^6}. \tag{2.30}$$

4. *Forces d'induction.* Le dipôle permanent d'une molécule ou d'un groupement atomique induit dans une autre molécule (un autre groupement atomique) un moment dipolaire, avec lequel il entre en interaction. Le moment dipolaire induit par un champ électrique d'intensité $\boldsymbol{E}$ s'écrit

$$\boldsymbol{p} = a\boldsymbol{E}, \tag{2.31}$$

a étant la polarisabilité caractérisant l'aptitude d'une couche électronique à se déplacer sous l'action d'un champ électrique. La polarisabilité est mesurée en unités de volume; les polarisabilités des atomes et des petites molécules ont l'ordre de grandeur de leurs volumes, soit 10^{-24} cm^3. Dans le cas considéré l'intensité du champ électrique du dipôle dans une molécule se trouvant à la distance r du dipôle, est donnée par $E = 2p/r^3$ (lorsque $\boldsymbol{p}$ et $\boldsymbol{r}$ sont parallèles) et l'énergie d'interaction d'induction par

$$U_{\text{ind}} = -\frac{1}{2}aE^2 = -2ap^{2/r^6}. \tag{2.32}$$

De même qu'U_{or}, l'énergie d'interaction d'induction est inversement proportionnelle à la distance élevée à la puissance six; par contre, elle ne dépend pas de la température.

Les formules (2.28) à (2.32) ne se vérifient que pour les dipôles ponctuels, i.e. à condition que $p \ll er$, e étant la charge de l'électron. Lorsque cette condition n'est pas respectée, il devient nécessaire de calculer l'interaction des charges ponctuelles (les monopôles).

Les interactions énumérées ci-dessus sont électrostatiques, l'énergie d'attraction ou de répulsion étant calculée en partant de l'électrostatique classique. Les effets quantiques y sont pratiquement insignifiants.

5. *Forces de dispersion ou forces de London.* Interaction des couches électroniques atomiques et moléculaires à valences saturées. Ces forces sont indépendantes des charges, moments dipolaires, quadrupolaires, etc. C'est le cas des forces intervenant, par exemple, entre les molécules N_2, O_2, CO_2, celles des gaz rares à l'état de mélange (air) ou prises isolément. Ces forces déterminent le comportement non parfait des gaz non dipolaires, leur liquéfaction. Les forces de dispersion sont responsables de l'existence des cristaux moléculaires, particulièrement, des cristaux d'hydrocarbures. Ces forces sont de nature quantique: la physique classique s'avère incapable d'expliquer leur existence.

Le calcul élémentaire de l'énergie d'interaction de dispersion est fondé sur la représentation des électrons en tant qu'oscillateurs harmoniques. Deux oscillateurs identiques présentent, entre eux, une interaction dipôle-dipôle instantanée, d'où l'apparition, à la place de la vibration initiale de fréquence ω_0, de deux vibrations normales, dont les fréquences s'écartent de ω_0 d'autant plus que l'interaction est plus forte. L'énergie de vibrations au point zéro varie en conséquence. En l'absence d'interaction elle vaut

$$\mathscr{E}_0^0 = 6\,\frac{\hbar\omega_0}{2}, \tag{2.33}$$

$\hbar$ étant la constante de Planck. Le facteur 6 y apparaît du fait que chaque électron-oscillateur est supposé posséder trois degrés de liberté. Au cours de l'interaction, l'énergie de vibrations au point zéro devient

$$\mathscr{E}_0 = \frac{1}{2}\,\hbar\omega_0 \left\{2\left[\left(1+\frac{e}{fr^3}\right)^{1/2} + \left(1-\frac{e^2}{fr^3}\right)^{1/2}\right] + \left(1+\frac{2e^2}{fr^3}\right)^{1/2} + \left(1-\frac{2e^2}{fr^3}\right)^{1/2}\right\}, \tag{2.34}$$

où e est la charge de l'électron, f le coefficient d'élasticité de l'oscillateur, r la distance entre les oscillateurs. Lorsque $e^2/fr^3 \ll 1$,

$$\mathscr{E}_0 \approx 3\hbar\omega_0 - \frac{3}{4}\,\hbar\omega_0\,\frac{e^4}{f^2r^6}, \tag{2.35}$$

d'où l'énergie d'interaction

$$U_{\text{disp}} = \mathscr{E}_0 - \mathscr{E}_0^0 = -\frac{3}{4}\,\hbar\omega_0\,\frac{e^4}{f^2r^6}. \tag{2.36}$$

Plaçons l'électron-oscillateur dans un champ électrique $\boldsymbol{E}$. La force $e\boldsymbol{E}$ qui agit sur l'électron est compensée par la force élastique $f\boldsymbol{r}$. Par conséquent, le moment dipolaire induit s'écrit

$$\boldsymbol{p} = e\boldsymbol{r} = \frac{e^2}{f}\,\boldsymbol{E} = a\boldsymbol{E}, \tag{2.37}$$

a étant la polarisabilité de l'oscillateur:

$$a = \frac{e^2}{f} = \frac{e^2}{m\omega_0^2} \tag{2.38}$$

(m est la masse de l'oscillateur). En portant a dans l'expression (2.36), on obtient

$$U_{\text{disp}} = -\frac{3}{4}\,\hbar\omega_0 \frac{a^2}{r^6}. \tag{2.39}$$

L'énergie d'interaction de dispersion est également inversement proportionnelle à la sixième puissance de la distance entre les systèmes en interaction. La présence du facteur $\hbar$ dans l'expression (2.39) témoigne de la nature quantique des forces de dispersion calculées pour la première fois par London.

Les forces de dispersion ont une valeur universelle pour les interactions intra et intermoléculaires des groupements atomiques et des molécules à valences saturées.

Usuellement, les forces 3, 4 et 5 sont dites forces de Van der Waals, car leur totalité détermine l'attraction intermoléculaire responsable de la correction de pression dans l'équation de Van der Waals. La correction de volume correspond à la répulsion intermoléculaire à petites distances, dont la nature est également quantique.

L'ordre de grandeur de l'énergie des interactions de Van der Waals correspond à la chaleur d'évaporation du liquide qui est de l'ordre de 10 kJ/mol.

6. *Liaisons hydrogène.* Il s'agit des interactions donneur-accepteur spécifiques que l'atome H crée dans les groupes O—H, N—H, F—H, Cl—H, parfois dans S—H. L'hydrogène lie ces groupes à certains atomes ayant toutes leurs valences saturées (O, N, F), par exemple, dans l'eau:

```
 `\       `\  /
   H        H
    \        \
     O—H•••O—H•••
    /¦       ¦
```

Les liaisons hydrogène déterminent la structure et les propriétés de l'eau; elles jouent un rôle très important dans la formation de la structure des biopolymères et dans leurs interactions avec les petites molécules. Les énergies des liaisons hydrogène sont de l'ordre de 4 à 29 kJ/mol. On en reparlera avec plus de détails au § 4.3.

7. *Interactions hydrophobes.* Les biopolymères (protéines et acides nucléiques) fonctionnent principalement en milieu aqueux. Les forces hydrophobes sont les forces de répulsion spécifique entre les groupes atomiques non polaires et les molécules d'eau. Cet effet entropique est le résultat de certaines particularités de la structure de l'eau comme système condensé. Les interactions hydrophobes jouent

un rôle extrêmement important dans la formation de la structure des protéines, des systèmes supramoléculaires (membranes), etc.

Les interactions hydrophobes seront décrites plus en détail au § 4.5.

Les interactions faibles sont à l'origine de la flexibilité moléculaire: des propriétés conformationnelles des biopolymères et des petites molécules (v. Chapitre 3). Elles sont responsables de la reconnaissance moléculaire qui se réalise dans la catalyse enzymatique (Chapitre 6), dans la biosynthèse (Chapitre 8) et dans toute une série de processus biologiques se déroulant au niveau moléculaire.

CHAPITRE 3

PHYSIQUE DES MACROMOLÉCULES

§ 3.1. Macromolécules et haute élasticité

La complexité des macromolécules biologiques — protéines et acides nucléiques — est très grande. Leurs propriétés dans les systèmes vivants sont déterminées par toutes les particularités de la structure, en particulier, par le fait que ces molécules portent une information, ce sont des « textes ». Il importe d'établir ce qui, dans le comportement des biopolymères, est lié au fait même de leur structure en chaîne, indépendamment des groupes atomiques concrets entrant dans la composition de la macromolécule. Les chaînes simples non informationnelles des polymères synthétiques servent de modèles pour l'étude de ce problème.

Comme on l'a déjà dit, la physique des macromolécules est une des bases de la biophysique moléculaire.

Les polymères sont synthétisés par des méthodes chimiques ou bien tirés des plantes (caoutchouc, cellulose), principalement, pour leurs propriétés physiques précieuses. L'industrie les utilise sous forme de plastiques, d'isolants, de fibres et de matériaux de haute élasticité : caoutchoucs synthétiques et naturels.

Le plus simple polymère synthétique, le polyéthylène

```
    CH2 CH2 CH2
 \ /  \ /  \ /  \
  CH2  CH2  CH2
```

est préparé par *polymérisation* de l'éthylène $H_2C{=}CH_2$, avec ouverture des doubles liaisons.

C'est par un procédé semblable que l'on prépare le *cis*-polyisoprène, analogue du caoutchouc naturel,

```
—H2C—CH2          CH2—CH2          CH2→
       \         /       \         /
        C = C             C = C
       /     \           /     \
    H3C       H       H3C       H
```

qui résulte de la polymérisation de l'isoprène $H_2C{=}C(CH_3){-}CH{=}$ $=CH_2$. Certains polymères, dont le nylon et ses analogues, sont syn-

thétisés par *polycondensation*: processus, au cours duquel il y a libération de quelque substance. Comme nous l'avons vu, la chaîne polypeptique se forme par polycondensation d'aminoacides avec libération d'eau ; la chaîne polynucléotidique est issue de la polycondensation de nucléosides triphosphates, la substance libérée étant le pyrophosphate.

La *haute élasticité* est la propriété spécifique des polymères qui intéresse le plus la biophysique : c'est la capacité d'un polymère caoutchouté en blocs de subir des déformations élastiques importantes (atteignant plusieurs centaines de pour cent), tout en présentant un petit module d'élasticité. Le caoutchouc, ainsi que les autres corps élastiques, obéit, dans le cas de petites déformations, à la loi de Hooke : la tension est proportionnelle à la déformation relative :

$$\sigma = \varepsilon \frac{L - L_0}{L_0}. \tag{3.1}$$

Ici σ est la tension, L et L_0 sont les longueurs des éprouvettes étendue et non étendue, ε le module d'élasticité. Pour l'acier $\varepsilon \approx 200\,000$ MPa, pour les caoutchoucs vulcanisés $\varepsilon \approx 0{,}2$ à 8 MPa (suivant le degré de vulcanisation du caoutchouc). Dans ce sens le caoutchouc rappelle le gaz parfait. Le gaz parfait obéit à la loi de Clapeyron

$$pV = RT. \tag{3.2}$$

Comprimons le gaz se trouvant dans un cylindre à piston, à température constante, en augmentant la pression de dp. Le volume se réduira de dV. Selon (3.2),

$$dp = -p\frac{dV}{V} = p\frac{L_0 - L}{L_0}, \tag{3.3}$$

où L_0 est la position initiale du piston et L sa position finale. L'équation (3.3) est analogue à (3.1), le rôle de module d'élasticité ε étant rempli par la pression p. A la pression atmosphérique répond $\varepsilon =$ $= 100$ kPa qui est du même ordre de grandeur que le module d'élasticité du caoutchouc. Le gaz parfait s'échauffe par compression adiabatique. Le caoutchouc s'échauffe de façon analogue par extension adiabatique. Cela veut dire que, dans les deux cas, la déformation conduit à une diminution de l'entropie. Le travail fourni par la force f pour étendre le caoutchouc d'une certaine longueur dL est donné par

$$f dL = dF = dE - T dS, \tag{3.4}$$

où F est l'énergie libre, E l'énergie interne, S l'entropie. Le caoutchouc est pratiquement incompressible. La force élastique lors de l'extension isothermique du caoutchouc s'écrit

$$f = \left(\frac{\partial F}{\partial L}\right)_T = \left(\frac{\partial E}{\partial L}\right)_T - T\left(\frac{\partial S}{\partial L}\right)_T. \tag{3.5}$$

Expérimentalement, pour le caoutchouc la force f est proportionnelle à T, la droite $f(T)$ passant au voisinage de l'origine des coordonnées. En d'autres termes,

$$\left(\frac{\partial E}{\partial L}\right)_T \approx 0. \tag{3.6}$$

De même que l'énergie interne du gaz parfait ne dépend pas du volume

$$\left(\frac{\partial E}{\partial V}\right)_T = 0, \tag{3.7}$$

l'énergie interne du caoutchouc ne dépend pas de la longueur. Dans les deux cas la force élastique est fonction de la variation de l'entropie et non pas de l'énergie interne. Pour le caoutchouc

$$f \approx -T\left(\frac{\partial S}{\partial L}\right)_T. \tag{3.8}$$

C'est en cela que consiste la différence de principe entre la haute élasticité d'un polymère et l'élasticité d'un corps solide (tel le ressort d'acier), déterminée par la variation de l'énergie interne.

Pourquoi le caoutchouc ressemble-t-il au gaz parfait ? La nature entropique de l'élasticité du gaz parfait découle du fait que la diminution de son volume conduit à l'augmentation du nombre de chocs moléculaires contre la paroi : la force élastique est fonction de l'agitation thermique des molécules. La compression du gaz réduit son entropie, car alors le gaz passe d'un état plus probable (raréfié) à un état moins probable (comprimé). Le module d'élasticité du gaz parfait est donc proportionnel à la température absolue :

$$p = \frac{R}{V}T.$$

La proportionnalité du module d'élasticité du caoutchouc à la température absolue, qui découle de (3.8), témoigne également de la nature entropique de la haute élasticité, de ce que le caoutchouc est composé d'un grand nombre d'éléments indépendants soumis à l'agitation thermique. Le passage d'une disposition plus probable de ces éléments à leur disposition moins probable a lieu lors de l'extension du caoutchouc. L'analogie entre les propriétés du caoutchouc et celles du gaz parfait ne peut consister qu'en cela. Mais quels sont donc ces éléments ? Qu'est-ce qui, dans le caoutchouc, joue le rôle de molécules de gaz ?

Les macromolécules se distinguent des petites molécules, avant tout, par le nombre élevé de chaînons identiques liés en une chaîne linéaire. En règle générale, les macromolécules comportent des liaisons σ simples C—C, C—N, C—O, etc. Ces liaisons rendent possible la rotation de groupes atomiques autour d'elles. De telles rotations conduisent à l'apparition, autour des liaisons simples, des différentes conformations de la chaîne. La macromolécule possède une labi-

lité conformationnelle, elle est plus ou moins flexible. Les parties de la chaîne qui effectuent des rotations indépendantes jouent le rôle d'éléments à mouvement indépendant. Comme nous le verrons plus loin, les propriétés conformationnelles des molécules biologiques ont une très grande importance. Pour mieux connaître ces propriétés, nous commencerons par l'examen du caoutchouc, pour arriver, au bout du compte, à comprendre la nature de l'activité enzymatique.

Selon un mot de Landau, la tâche de la physique consiste à établir de nouveaux rapports entre des phénomènes éloignés les uns des autres. Nous avons déjà établi ce qui lie le caoutchouc au gaz parfait. Plus loin nous verrons ce qui lie l'enzyme au caoutchouc.

§ 3.2. Rotation interne et isomérie de rotation

La chimie organique classique considérait comme libre la rotation des groupes atomiques autour des liaisons simples. Toutes les *conformations* (par exemple, celles de l'éthane $H_3C—CH_3$) qui ré-

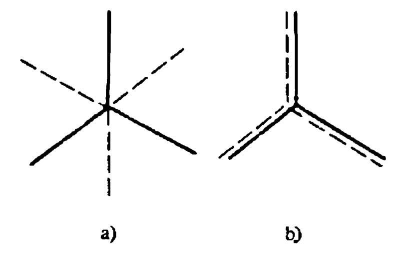


Fig. 3.1. Disposition des liaisons C—H de l'éthane dans les conformations *trans* (*a*) et *cis* (*b*). Projections sur le plan perpendiculaire à la liaison C—C

Fig. 3.2. Courbe de l'énergie potentielle de rotation interne en fonction de l'angle de rotation dans l'éthane

sultent des rotations internes, auraient la même énergie; le changement de l'angle de rotation ne demanderait aucune dépense d'énergie. Certaines conformations de l'éthane sont représentées sur la figure 3.1.

Toutefois, l'étude des propriétés thermodynamiques de l'éthane et d'autres composés à liaisons simples, ainsi que l'étude de la structure par spectroscopie, RMN, etc., ont montré que la rotation interne n'est à peu près jamais libre. La molécule d'éthane a son énergie minimale dans la conformation *trans* (décalée) (fig. 3.1, *a*) et son énergie maximale dans la conformation *cis* (éclipsée). La rotation de 120° autour de la liaison C—C qui correspond au passage d'une conformation *trans* à une autre, identique à la première, suppose que soit franchie une barrière d'énergie valant 12 200 J/mol. Pour l'éthane ainsi que pour les autres molécules à symétrie axiale C_3,

la dépendance de l'énergie potentielle avec l'angle de rotation φ a la forme approximative suivante:

$$U = \frac{1}{2} U_0 (1 - \cos 3\varphi), \tag{3.9}$$

où U_0 est la hauteur de la barrière de potentiel (fig. 3.2). La valeur de U_0 augmente, si l'on remplace les atomes H de l'éthane par des atomes et groupes plus volumineux; elle diminue, si l'on allonge l'axe de rotation (cf. $H_3C—CH_3$, $H_3C—SiH_3$, $H_3Si—SiH_3$). Quelques valeurs expérimentales de U_0 figurent au tableau 3.1.

Tableau 3.1

Hauteurs de quelques barrières énergétiques de rotation interne

Molécule	$\frac{kJ}{mol}$	$\frac{kcal}{mol}$	Molécule	$\frac{kJ}{mol}$	$\frac{kcal}{mol}$
$H_3C—CH_3$	12,2	2,9	$H_3C—OH$	4,6	1,1
$H_3C—CH_2CH_3$	14,3	3,4	$H_3C—OCH_3$	11,3	2,7
$H_3C—CH(CH_3)_2$	16,4	3,9	$H_3C—SH$	5,5	1,3
$H_3C—C(CH_3)_3$	18,5	4,4	$H_3C—CH{=}CH_2$	8,4	2,0
$H_3C—CH_2F$	13,9	3,3	$H_3C—SiH_3$	7,1	1,7
$H_3C—CH_2Cl$	15,5	3,7	$H_3Si—SiH_3$	4,2	1,0
$H_3C—CH_2Br$	15,1	3,6	$H_3C—C{\equiv}C—CH_3$	0	0

L'énergie potentielle de rotation interne est déterminée par les interactions faibles des atomes et des groupes non liés par des liaisons de valence (dans l'éthane c'est l'interaction des atomes H d'un groupe CH_3 avec les atomes H d'un autre groupe CH_3). Le calcul quantique strict de la valeur de U_0 est difficile à réaliser, car elle est beaucoup plus petite que l'énergie totale des liaisons chimiques de la molécule et est déterminée comme une petite différence entre deux grandeurs élevées: énergies totales de la molécule dans les conformations *cis* et *trans*. La barrière résulte de la répulsion des atomes non liés par des liaisons de valence et de l'interaction des liaisons adjacentes à l'axe de rotation (effet d'orientation des liaisons). L'un et l'autre rendent plus stable la conformation *trans* (principe des liaisons croisées). Il est possible d'évaluer la répulsion interatomique, connaissant les relations caractéristiques qui lient l'énergie d'interaction entre molécules aux distances séparant les molécules des corps de référence (v. p. 66). Une tâche plus difficile est la détermination de l'effet d'orientation des liaisons. On peut l'apprécier de façon approchée en posant que dans l'éthane, vu le faible rayon de Van der Waals de l'atome d'hydrogène, U (φ) est complètement déterminé par l'effet d'orientation et que le même effet se retrouve dans les dé-

5—01676

rivés de l'éthane. Alors on a pour les dérivés de l'éthane

$$U(\varphi) = \frac{1}{2} \ _{\text{éth}} (1 - \cos 3\varphi) + \sum_{i,j} U(r_{ij}), \tag{3.10}$$

$U(r_{ij})$ étant l'énergie des interactions de Van der Waals des atomes non liés valentiellement i et j, séparés par la distance r_{ij}. Il est clair que r_{ij} dépend de φ.

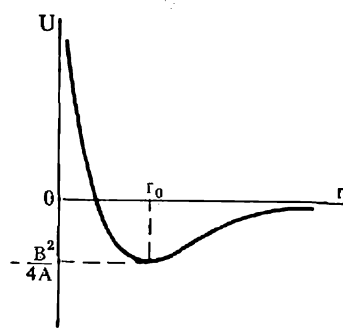


Fig. 3.3. Energie potentielle d'interaction de Van der Waals en fonction de la distance intermoléculaire

Lorsque les liaisons sont non polaires, $U(r_{ij})$ se compose de l'énergie des forces de dispersion (p. 58) et de l'énergie de répulsion.

Dans le cas des molécules ou des groupes polaires possédant des moments dipolaires, on trouve, à côté des forces de dispersion, des forces électrostatiques : d'orientation et d'induction (v. p. 56).

Toutes ces trois variétés de forces présentent une dépendance identique avec la distance : les énergies correspondantes sont inversement proportionnelles à r^6. Les énergies de la répulsion de Van der Waals sont encore plus intimement liées à la distance, car la répulsion est sensiblement moins prononcée à petites distances. On peut considérer de façon approximative que l'énergie de répulsion est inversement proportionnelle à r^{12}. L'énergie totale des interactions de Van der Waals des atomes, des molécules ou des groupements peut être représentée par la formule

$$U(r) = \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6}, \tag{3.11}$$

où $U(r)$ est le *potentiel* « 6-12 » de *Lennard-Jones*. La figure 3.3 représente la forme de la courbe correspondante. L'énergie d'interaction est minimale et égale à $-B^2/4A$ à la distance $r_0 = (2A/B)^{1/6}$. Le potentiel (3.11) a été trouvé empiriquement. On a proposé d'autres potentiels où, en particulier, la répulsion peut être représentée par l'exponentielle $A \exp(-ar)$. Cela introduit encore un paramètre empirique.

Le tableau 3.2 présente les constantes du potentiel de Lennard-Jones pour quelques paires d'atomes.

On calcule l'énergie de la rotation interne en partant de l'hypothèse que les interactions intramoléculaires non valentielles ont la même nature que les interactions entre molécules. A. Kitaïgorodski a même étendu à ce type de problèmes la *méthode des potentiels atome-atome* qu'il avait créée précédemment pour le calcul des énergies des

Tableau 3.2

Constantes du potentiel de Lennard-Jones

Atomes	$B \cdot 10^6$, $\frac{kJ}{mol \cdot nm^6}$	$A \cdot 10^{12}$, $\frac{kJ}{mol \cdot nm^{12}}$	r_0, nm	Atomes	$B \cdot 10^6$, $\frac{kJ}{mol \cdot nm^6}$	$A \cdot 10^{12}$, $\frac{kJ}{mol \cdot nm^{12}}$	r_0, nm
HH	197,4	18,9	0,24	CN	1537,2	907,2	0,32
CC	1554,0	121,2	0,34	CH	537,6	159,6	0,29
NN	1524,6	676,2	0,31	NO	1533,0	642,6	0,31
OO	1541,4	609,0	0,30	HO	520,8	105,0	0,27
CO	1541,4	861,0	0,32	NH	525,0	113,4	0,28

cristaux moléculaires. On y utilise comme paramètres empiriques les distances d'équilibre (r_0) entre les atomes non liés entre eux par des liaisons de valence. On y tient également compte du fait que les potentiels ne sont jamais sphériquement symétriques dans les molécules : ainsi, le rayon d'équilibre d'un atome monovalent dépend de l'angle que ce rayon forme avec la liaison de valence. Ainsi s'introduit encore un paramètre empirique. Nous reparlerons du calcul des conformations moléculaires au chapitre suivant.

Lorsqu'on a affaire à une molécule qui, à la différence de l'éthane, n'a pas de symétrie axiale, la courbe U (φ) n'est plus décrite par la formule de la forme (3.9). Ainsi, pour la molécule de *n*-butane

```
H3C       H
   \     /
H—C——C—H
   /     \
  H       CH3
```

la courbe représentant l'énergie interne en fonction de l'angle de rotation φ autour de la liaison centrale C—C a la forme qu'on peut voir sur la figure 3.4. On y trouve trois minimums d'énergie : le premier, le plus profond (à 0 et 360°) répond à la conformation *trans*; deux autres, de profondeur égale, répondent aux conformations que l'on obtient si, à partir de la position *trans*, on fait tourner un des groupes C_2H_5 par rapport à l'autre groupe C_2H_5 de 120 et —120°. Ces conformations sont dites *gauches*.

Il est évident que les molécules caractérisées par plusieurs minimums d'énergie U (φ) non équivalents, existent justement dans ces états, en passant d'une conformation dans une autre avec une vitesse qui dépend de la hauteur de la barrière séparant les minimums. Les nombres d'équilibre des molécules de *n*-butane présentant les conformations *trans* (N_t), ainsi que les conformations déviées de 120° vers la droite (N_d) et vers la gauche (N_l), sont faciles à calculer

en appliquant la loi de distribution de Boltzmann :

$$N_t = N \frac{1}{1+2\exp(-\Delta E/RT)},$$
$$N_d = N_l = N \frac{\exp(-\Delta E/RT)}{1+2\exp(-\Delta E/RT)}, \qquad (3.12)$$

où ΔE est la différence d'énergie des minimums (fig. 3.4). Il va de soi que $N_t + N_d + N_l = N$, nombre total de molécules. Le corps entier est un mélange dynamique de plusieurs conformations auxquelles on donne des noms divers : *isomères de rotation*, *rotamères*,

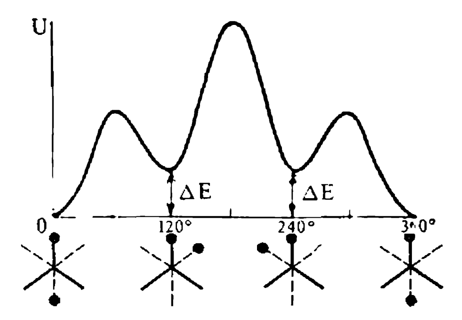


Fig. 3.4. Energie potentielle de rotation interne en fonction de l'angle de rotation dans le *n*-butane

conformères. La composition d'un mélange en équilibre thermodynamique est déterminée par la différence d'énergie des rotamères ΔE et par la température. Lorsque $T \to \infty$, le nombre de molécules $N_t = N_d = N_l = N/3$; lorsque T baisse jusqu'au point de fusion, le corps se cristallise sous la forme d'un des rotamères (le plus stable), les formules (3.12) devenant désormais inapplicables.

Lorsque les barrières sont de l'ordre de dix kJ/mol, le temps d'isomérisation de rotation (le temps que dure la transformation d'un rotamère dans un autre) est d'environ 10^{-10} s. Cette estimation est fournie par le calcul fondé sur la théorie des vitesses absolues de réactions (v. § 6.1). Il s'ensuit que les rotamères sont impossibles à séparer. Leur existence et leurs proportions sont établies en étudiant les propriétés physiques et chimiques des mélanges de rotamères. La structure spatiale des rotamères étant différente, leurs spectres de vibration présentent des écarts. Au cours de la vie d'un rotamère il se produit des centaines et des milliers de vibrations (d'une fréquence de 10^{12} à 10^{13} s^{-1}) : le rotamère a donc le temps d'« envoyer » son spectre. En effet, l'existence de l'isomérie de rotation fut découverte par Kohlrausch à l'aide de spectres Raman. Le rapport des intensités des raies spectrales correspondant à différents rotamères est fonction de leurs proportions respectives dans le mélange confor-

mément aux formules (3.12). Par conséquent, il est possible de trouver ΔE en considérant l'allure de la courbe des intensités des raies spectrales en fonction de la température. C'est ainsi que l'on a déterminé que pour le *n*-butane $\Delta E \approx 2{,}5$ kJ/mol.

Des informations sur la rotamérie sont également fournies par la spectroscopie en radiofréquences, la RMN, la radiocristallographie des électrons, la mesure des moments dipolaires et ainsi de suite. Le calcul théorique des valeurs de ΔE est effectué, naturellement, par les mêmes méthodes que le calcul des barrières (p. 99). Si l'énergie du système est fonction de plusieurs angles (dans le cas du *n*-butane ce sont les angles

$$\varphi(-H_2C \rightarrow CH_2-) \quad \text{et} \quad \varphi_1 = \varphi_2(H_3C \rightarrow CH_2-)),$$

on ne calcule plus une courbe du type représenté sur la figure 3.4, mais une surface énergétique multidimensionnelle $U(\varphi, \varphi_1, \varphi_2, \ldots)$ qui est une sorte de carte géodésique. Nous aurons affaire à de telles surfaces en considérant les conformations des protéines.

Il convient de souligner la distinction de principe entre les conformations et les *configurations* moléculaires. Le passage d'une conformation à une autre est le résultat de rotations internes autour d'une liaison simple. Dans ce cas la configuration demeure inchangée. Par contre, pour passer à une autre configuration, il faut qu'il y ait rupture de liaisons covalentes et formation de nouvelles liaisons. Un exemple de configurations différentes est fourni par les antipodes optiques des molécules chirales (v. fig. 2.10).

L'étude de l'isomérie et de l'isomérisation de rotation, c'est-à-dire des conformations et des transformations conformationnelles, a acquis une grande importance en chimie organique et bioorganique. Les particularités principales du comportement physique des macromolécules synthétiques et biologiques sont liées à leurs propriétés conformationnelles.

§ 3.3. Isomérie de rotation et théorie des macromolécules

Dans la chaîne du polyéthylène (p. 61) composée de liaisons simples C—C, des rotations internes se produisent dans chaque chaînon. C'est justement la rotation interne (transitions conformationnelles) qui détermine la flexibilité de la chaîne responsable de la haute élasticité du polymère.

Construisons un modèle de macromolécule, simplifié à l'extrême, qui a la forme de barres de même longueur b, jointes à l'aide d'articulations (fig. 3.5). Chaque barre tourne librement par rapport aux barres voisines. Ainsi, le jeu de conformations résultant des rota-

tions autour de chaque atome de la chaîne (représenté par une articulation) est continu pour les angles variant de 0 à 4π, l'énergie demeurant inchangée au cours de toute la rotation. Il est possible de caractériser cette chaîne par un vecteur $\boldsymbol{h}$ réunissant le premier et le dernier atome de la chaîne (fig. 3.5). Il est évident que la valeur moyenne du vecteur $\boldsymbol{h}$ prise sur toutes les conformations est nulle: $\overline{\boldsymbol{h}} = 0$, car toutes ses directions sont équiprobables dans les conditions de l'agitation thermique. Il s'agit d'établir comment sont réparties dans ce cas les probabilités de réalisation de telles ou telles valeurs numériques de $h \equiv |\boldsymbol{h}|$ qui peuvent varier entre zéro et la longueur maximale de la chaîne redressée Zb (Z étant le nombre de chaînons, b la longueur d'un chaînon). La résolution de ce problème est analogue à celle du problème de la théorie de l'agitation brownienne: il s'agit de trouver la probabilité pour une particule de se déplacer à la distance h après Z pas, dont chacun a la longueur b et une direction arbitraire. La distribution des probabilités se trouve être gaussienne: la probabilité pour que la distance séparant les extrémités de la chaîne soit comprise dans l'intervalle entre h et $h + dh$, est donnée par

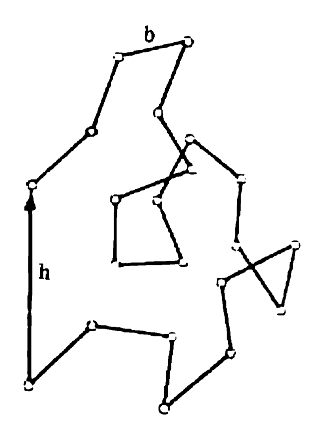


Fig. 3.5. Schéma d'une chaîne librement articulée

$$W(h)\,dh = \left(\frac{3}{2\pi Zb^2}\right)^{3/2} 4\pi h^2 \exp\left(-\frac{3h^2}{2Zb^2}\right) dh. \tag{3.13}$$

Si l'on fixe une extrémité de la chaîne au point 0 et que l'on place l'autre dans un élément de volume se trouvant à la distance h du point 0, le nombre de configurations de la chaîne sera proportionnel à l'élément de volume et à la densité de probabilité $w(\boldsymbol{h})$ de cet élément. On a

$$w(h) = \left(\frac{3}{2\pi Zb^2}\right)^{3/2} \exp\left(-\frac{3h^2}{2Zb^2}\right). \tag{3.14}$$

Le carré moyen de la longueur de la chaîne est égal à

$$\overline{h^2} \approx \int_0^\infty h^2 w(h)\,dh = Zb^2, \tag{3.15}$$

ce qui veut dire que la chaîne est très tordue. La formule (3.15) se vérifie pour $Z \gg 1$, lorsque la limite supérieure de Zb peut être remplacée par l'infini.

Ainsi, l'agitation thermique fait que la macromolécule se pelotonne. La probabilité d'un tel état est beaucoup plus grande que celle de l'état redressé, car la conformation allongée de la chaîne ne peut se réaliser que d'une seule façon, alors que la conformation « en pelote » peut résulter de pelotonnements très divers. Le fait que les macromolécules en solution ont une forme en pelote est prouvé expérimentalement (§ 3.6).

La nature entropique de la haute élasticité du caoutchouc découle directement de ce qui vient d'être dit. Les chaînes non allongées sont pelotonnées, à quoi correspond l'entropie maximale. Lorsque la pelote s'allonge, l'entropie diminue. L'entropie de la chaîne redressée s'écrit, conformément à (3.14) (k étant la constante de Boltzmann):

$$S = k \ln w(h) = C - \frac{3kh^2}{2Zb^2} \qquad (3.16)$$

et, d'après (3.8), la force élastique qui apparaît lors de l'allongement de la chaîne, est égale à

$$f = -T\left(\frac{\partial S}{\partial h}\right)_T = \frac{3kT}{Zb^2}h. \qquad (3.17)$$

La loi de Hooke se vérifie, le module d'élasticité est proportionnel à la température absolue. Nous venons d'exposer la théorie cinétique de l'élasticité du caoutchouc, proposée par Kuhn.

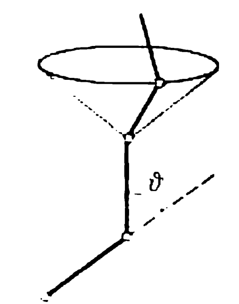


Fig. 3.6. Chaîne à angles de valence fixes

Dans les macromolécules réelles les angles de valence formés par les liaisons sont fixes et les rotations ne sont pas libres. Définissons la position de deux chaînons voisins de la chaîne de polyéthylène (fig. 3.6). Le troisième chaînon peut occuper des positions diverses à la surface d'un cône d'ouverture 2ϑ ($\pi - \vartheta$) est l'angle de valence entre les liaisons C—C, voisin de l'angle tétraédrique de 109°28′). A ces différentes positions caractérisées par l'angle de rotation φ autour de la seconde liaison C—C, correspondent les différentes énergies $U(\varphi)$. La position de la quatrième liaison par rapport à deux premières est moins bien définie, car elle est située sur un cône décrit autour de chacune des positions de la troisième liaison, et ainsi de suite. Une liaison suffisamment éloignée est située, par rapport à la première, d'une façon pratiquement accidentelle. Voilà pourquoi une chaîne longue se pelotonne. Il est possible de diviser mentalement la macromolécule en segments, dont les positions ne présenteraient aucune corrélation. Les formules (3.13) à (3.17) demeurent valables, mais Z et b correspondent alors au nombre et à la longueur des segments librement articulés et non pas à ceux des chaînons réels.

Néanmoins, on peut élaborer une théorie moléculaire de la chaîne,

en exprimant la longueur de la chaîne par le nombre de chaînons réels N, la longueur d'un chaînon l et l'angle ϑ. Le vecteur $\boldsymbol{h}$ est la somme des vecteurs des chaînons

$$\boldsymbol{h}=\sum_{i=1}^{N}\boldsymbol{l}_i. \tag{3.18}$$

Par conséquent,

$$\overline{h^2}=\sum_{i=1}^{N}\sum_{j=1}^{N}\overline{\boldsymbol{l}_i\boldsymbol{l}_j}=\sum_{i=1}^{N}l_i^2+2\sum_{i=2}^{N}\sum_{j=1}^{i-1}\overline{\boldsymbol{l}_i\boldsymbol{l}_j}. \tag{3.19}$$

Dans une chaîne réelle les valeurs moyennes des produits scalaires $\boldsymbol{l}_i\boldsymbol{l}_j$ dépendent des angles ϑ et φ. Pour une chaîne à appendices symétriques du type polyéthylène, le calcul strict donne la *formule d'Oka* (pour $N \gg 1$) :

$$\overline{h^2}=Nl^2\frac{1+\cos\vartheta}{1-\cos\vartheta}\,\frac{1+\eta}{1-\eta}, \tag{3.20}$$

où η est le cosinus moyen de l'angle de rotation interne φ:

$$\psi=\overline{\cos\varphi}=\frac{\int_0^{2\pi}\cos\varphi\cdot\exp\left(-U(\varphi)/kT\right)d\varphi}{\int_0^{2\pi}\exp\left(-U(\varphi)/kT\right)d\varphi}. \tag{3.21}$$

La valeur de $\overline{h^2}$, calculée suivant (3.20), est supérieure à celle pour la chaîne librement articulée (Nl^2), car la corrélation déterminée par l'absence de libre rotation et par les angles de valence rallonge la chaîne. La grandeur $\overline{h^2}$ est une mesure de la *flexibilité thermodynamique* : moins elle est élevée à N et l donnés, plus la chaîne est tordue, plus grande est sa flexibilité. Le calcul de $\overline{h^2}$ se ramène au calcul de η, d'où la nécessité de connaître l'énergie potentielle $U(\varphi)$. Mais cette difficulté est surmontable.

La théorie des dimensions, de la forme, des propriétés électriques et optiques des macromolécules en solution doit se fonder sur le mécanisme physique de leur flexibilité. La *théorie d'isomérie de rotation* (Volkenstein, 1951-1958) explique ce mécanisme.

Comme nous l'avons vu, les petites molécules dépourvues de symétrie axiale forment, par rotation autour de liaisons simples, divers isomères de rotation (rotamères). La figure 3.7 représente les rotamères du n-butane (cf. fig. 3.4) et la figure 3.8 les rotamères analogues du polyéthylène résultant de la rotation autour de toute liaison C—C de la chaîne. L'unique différence consiste en ce que le polyéthylène comporte, à la place des groupes CH_3, les groupes CH_2 joints à la chaîne qui se prolonge (ce qui est montré par le signe ~). Il s'ensuit que la macromolécule peut être assimilée à un mélange

équilibré d'isomères de rotation et la rotation interne dans la chaîne à une isomérisation de rotation (transitions d'une conformation dans une autre). Cela veut dire qu'au lieu de la courbe continue de $U(\varphi)$ il suffit de considérer les états de la chaîne correspondant aux rotamères à valeurs discrètes, fixes de φ. L'intégration dans (3.21) est

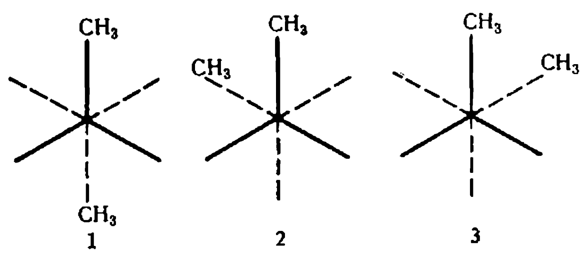


Fig. 3.7. Rotamères du *n*-butane

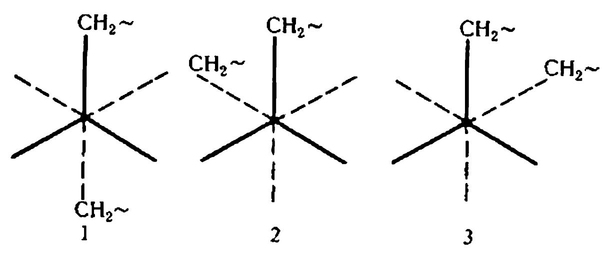


Fig. 3.8. Rotamères du polyéthylène

remplacée par la sommation étendue à tous les rotamères. Ainsi, pour le polyéthylène qui possède trois rotamères *1*, *2*, *3* (fig. 3.8)

$$\eta = \frac{\cos\varphi_1 \cdot \exp\left(-\frac{E_1}{kT}\right) + \cos\varphi_2 \cdot \exp\left(-\frac{E_2}{kT}\right) + \cos\varphi_3 \cdot \exp\left(-\frac{E_3}{kT}\right)}{\exp\left(-\frac{E_1}{kT}\right) + \exp\left(-\frac{E_2}{kT}\right) + \exp\left(-\frac{E_3}{kT}\right)}. \quad (3.22)$$

Pour le polyéthylène $E_2 - E_1 = E_3 - E_1 = \Delta E$; $\varphi_1 = 0°$, $\varphi_2 = 120°$, $\varphi_3 = -120°$ (cf. fig. 3.4) et

$$\eta = \frac{1 - \exp(-\Delta E/kT)}{1 + 2\exp(-\Delta E/kT)}. \quad (3.23)$$

Lorsque $\Delta E = 2500$ J/mol (p. 69) et $T = 273$ K, η vaut 0,37. En appliquant la formule d'Oka (3.20), on trouve que lorsque $\cos\vartheta = \cos(\pi - 109°28') = -1/3$, $\overline{h^2}$ vaut $1{,}1Nl^2$. La flexibilité thermodynamique est d'autant plus élevée que η (et donc ΔE) est plus petit.

Il va de soi qu'en réalité il se produit des fluctuations : vibrations de torsion autour des valeurs de φ correspondant aux isomères de rotation. On peut cependant ne pas en tenir compte, car ces vibrations, étant aléatoires, se compensent mutuellement en moyenne et n'influent pas sur les propriétés moyennes des chaînes.

La théorie faisant appel à l'isomérie de rotation se justifie bien dans les cas, où les minimums d'énergie $U(\varphi)$ sont séparés par des barrières notablement plus élevées que kT. Lorsque les barrières sont petites, la théorie en question garde sa valeur en tant qu'une méthode mathématique approchée qui remplace l'intégration par la sommation.

L'existence réelle de rotamères chez les macromolécules a été confirmée à l'aide de diverses techniques, avant tout par la méthode de spectroscopie infrarouge, par l'étude des propriétés thermomécaniques et de l'extension des polymères. La théorie d'isomérie de rotation sert de base à la physique statistique des macromolécules. Elle permet de calculer non seulement les dimensions des pelotes macromoléculaires, mais aussi leurs moments dipolaires et leurs polarisabilités, responsables de leurs propriétés électriques et optiques.

Le calcul de la flexibilité part de la structure chimique des macromolécules. Jusqu'ici nous n'avons parlé que du polyéthylène. Toutefois, nombreuses sont les macromolécules qui comportent dans leurs chaînons des appendices de masse considérable, tel le polystyrène $(-CH_2-CHR-)_n$, où R est C_6H_5. Dans ces cas-là les conformations sont déterminées de préférence par les interactions des appendices. On peut obtenir des renseignements sur les conformations de la chaîne par la méthode radiocristallographique, si le polymère se cristallise. Au cours de la cristallisation il y a fixation de certains rotamères pour tous les chaînons de la chaîne et un ordre étalé apparaît : maintenant, connaissant la position des atomes dans un chaînon monomère donné, on peut la connaître pour tout chaînon quelle que soit la distance qui le sépare du premier, car l'arrangement des atomes y est rigoureusement périodique. Parallèlement, le cristal présente, bien sûr, un ordre local : arrangement déterminé des unités voisines. L'ordre local cristallin se conserve lors de la fusion ou la dissolution du polymère, car la structure cristalline du polymère correspond au minimum de l'énergie potentielle. On peut supposer que l'ordre unidimensionnel local d'une macromolécule libre formant une pelote statistique est analogue à l'ordre unidimensionnel étalé du cristal. La confirmation de cette idée a été fournie par des calculs de conformations et par des études expérimentales.

Les rotations dans les chaînons voisins ne sont pas indépendantes les unes des autres : il y a là une corrélation qui conduit à l'allongement de la chaîne. Dans le polyéthylène on observe la stabilité des conformations des chaînons voisins (0°, 0°), soit (t, t) ; (0°, 120°)

et (0°, —120°) (t, s); (120°, 0°), (—120°, 0°) (s, t); (120°, 120°) et (—120°, —120°) (s, s). Les conformations (120°, —120°) et (—120°, 120°), i.e. (s^+, s^-) et (s^-, s^+), sont énergétiquement défavorables. La longueur quadratique moyenne de la chaîne, calculée en tenant compte de cette corrélation, se trouve égale non plus à $1{,}1Nl^2$, mais à $1{,}6Nl^2$.

Pour la chaîne non symétrique $(—CH_2—CHR—)_n$ les rotations dans le sens des aiguilles d'une montre et dans le sens opposé ne sont pas équivalentes les unes aux autres et la formule (3.20) ne se vérifie pas. Dans ce cas l'expression pour $\overline{h^2}$ comportera, en plus de $\overline{\cos\varphi}$, $\overline{\sin\varphi}$; dans le cas symétrique $\sin\varphi = 0$.

La théorie d'isomérie de rotation donne une interprétation quantitative des propriétés physiques des macromolécules en solution, qui est en bon accord avec l'expérience. Cette théorie explique le mécanisme physique de l'extension du caoutchouc, qui consiste en une

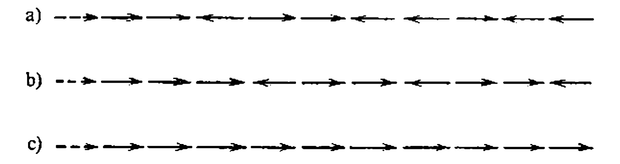


Fig. 3.9. Modèle unidimensionnel illustrant l'extension de la chaîne

isomérisation de rotation, en transformations conformationnelles. On peut illustrer ce que l'on vient de dire par un modèle unidimensionnel de la macromolécule. On représente chaque chaînon à l'aide d'une flèche de longueur l, orientée vers la droite ou vers la gauche. A un des rotamères (représenté par t) correspondent deux flèches voisines orientées d'un même côté et à l'autre (s) deux flèches orientées dans les sens opposés. La longueur totale de la chaîne s'exprime par la somme vectorielle des longueurs de toutes les flèches. La figure 3.9, *a* représente une chaîne composée de 10 chaînons, dont 5 sont orientés vers la droite et 5 vers la gauche; la longueur totale de la chaîne h est donc nulle. La chaîne comporte cinq rotamères t et cinq rotamères s (pour avoir un nombre de rotamères égal au nombre de chaînons qui est 10, on a ajouté encore un chaînon « nul » tourné vers la droite: il est montré en pointillé). Etendons la chaîne en y appliquant une force qui fait tourner les flèches vers la droite. On trouve sur la figure 3.9, *b* un des états étendus de la chaîne avec la longueur $h = (7 - 3)\,l = 4l$. Dans ce cas les nombres de rotamères sont restés les mêmes: cinq pour chacun. La chaîne s'est allongée jusqu'à $4l$ du fait d'une redistribution des rotamères, sans que leur teneur relative change. Il y a eu une transition *ttsststsst* → *tttsstssts* qui ne s'est accompagnée d'aucune variation de l'énergie. Mais une telle redistribution des rotamères où leurs proportions sont

respectées ne peut aboutir à l'extension complète de la chaîne. La chaîne complètement étendue (fig. 3.9, *c*) se compose de 10 rotamères *t*. Dans ce cas la transformation s'accompagne d'une variation de l'entropie, ainsi que de l'énergie: $10E_t \neq 5E_t + 5E_s$. En effet, l'indépendance de l'énergie interne du caoutchouc avec l'extension (formule (3.6)) n'est pas respectée d'une façon tout à fait rigoureuse. A côté de la contribution entropique, il existe une certaine contribution énergétique à la haute élasticité, car la différence d'énergie des rotamères ΔE n'est pas nulle. Ainsi, $(\partial E/\partial h)_T \neq 0$. L'expérience le confirme. L'étude des propriétés thermomécaniques des caoutchoucs a non seulement confirmé la présence d'une faible élasticité énergétique, mais a aussi permis de déterminer des valeurs expérimentales de ΔE en bon accord avec les valeurs calculées. L'étude directe de l'extension des polymères par spectroscopie infrarouge a montré que la teneur relative des rotamères variait effectivement au cours de l'essai.

Si la flexibilité d'une macromolécule est petite (les valeurs de ΔE étant élevées), il peut y avoir un mécanisme de pelotonnement de la chaîne autre que celui par isomérisation de rotation. Il y a alors non pas une rotamérisation, mais des vibrations de torsion autour d'une unique valeur de φ. Il apparaît une pelote très incohérente. Parmi ces macromolécules rigides on trouve les doubles hélices des ADN. Une chaîne rigide à vibrations de torsion peut être considérée en tant qu'une barre élastique (v. § 3.5).

Nous n'avons parlé jusqu'à présent que de la flexibilité thermodynamique, équilibrée des macromolécules qui est déterminée par la valeur de ΔE. La *flexibilité cinétique* caractérisant le comportement de la macromolécule dans le temps, i.e. la vitesse de la transformation conformationnelle, dépend principalement non pas de ΔE, mais de la hauteur de la barrière d'énergie qui sépare des conformations différentes. Les deux flexibilités (thermodynamique et cinétique) peuvent présenter des variations considérables. Les macromolécules constituées de liaisons π conjuguées ou de cycles aromatiques conjugués sont rigides, dépourvues de mobilité conformationnelle. A la différence des macromolécules à liaisons σ (polyéthylène, caoutchouc), les chaînes conjuguées sont une sorte de semiconducteurs à électrons π. Voilà pourquoi elles absorbent la lumière dans le domaine d'ondes longues: les polymères correspondants sont pratiquement noirs. La flexibilité et les propriétés semiconductrices des macromolécules sont incompatibles.

§ 3.4. Macromolécule comme un système coopératif

Comme on l'a déjà dit et comme cela découle de la figure 3.9, l'état (la conformation) d'un chaînon donné d'une macromolécule est fonction des états des chaînons voisins. Le système, dans lequel

les états des éléments dépendent les uns des autres, est dit coopératif. La notion de coopérativité fut introduite pour la première fois par Fowler qui étudiait les transitions de phase. Il est impossible de comprendre ces phénomènes très importants sans tenir compte de l'interaction des éléments du système. Ainsi, la transition gaz-liquide est une transition coopérative. Les états gazeux et liquide sont liés par l'équation de Van der Waals

$$\left(p+\frac{a}{V^2}\right)(V-b)=RT, \tag{3.24}$$

où a, b et R sont des constantes.

Comprimons un gaz à une température inférieure à la température critique. La diminution du volume V augmente l'attraction mutuelle des molécules a/V^2, ce qui provoque à son tour une diminution du volume et ainsi de suite. La coopération d'un grand nombre de particules conduit à une transition brusque qui se déroule selon le principe de « tout ou rien ».

La mécanique statistique dispose de méthodes pour calculer les propriétés des systèmes coopératifs : il s'agit du calcul de la somme statistique qui aide à trouver toutes les caractéristiques thermodynamiques du système. La prise en compte de l'interdépendance des conformations dans un système coopératif unidimensionnel (la macromolécule) fait que l'expression de l'énergie potentielle comporte des termes qui dépendent des conformations d'au moins deux chaînons voisins :

$$U(\Omega_1, \Omega_2, \ldots, \Omega_N)=\sum_{i=1}^{N} U(\Omega_{i-1}, \Omega_i), \tag{3.25}$$

où Ω_i est la conformation de l'i-ème chaînon représentée par les angles de rotation correspondants et N le nombre de chaînons.

Le calcul qui suit est fondé sur le *modèle unidimensionnel d'Ising* ; on l'effectue à l'aide de la méthode matricielle proposée par Kramers et Vannier.

La somme statistique conformationnelle pour une macromolécule en l'absence de forces extérieures a la forme

$$Z=\sum_{\Omega_1}\sum_{\Omega_2}\cdots\sum_{\Omega_N}\exp\left(-\frac{U(\Omega_1, \Omega_2, \ldots, \Omega_N)}{kT}\right). \tag{3.26}$$

La sommation s'étend à r rotamères de chaque chaînon. Si l'expression (3.25) est valable, on a

$$Z=\sum_{\Omega_1}\sum_{\Omega_2}\cdots\sum_{\Omega_N}\prod_{i=1}^{N} g(\Omega_{i-1}, \Omega_i), \tag{3.27}$$

où

$$g(\Omega_{i-1}, \Omega_i)=\exp\left(-\frac{U(\Omega_{i-1}, \Omega_i)}{kT}\right). \tag{3.28}$$

En supposant que la chaîne est constituée d'unités identiques qui se répètent, on peut considérer les valeurs de $g(\Omega_{i-1}, \Omega_i)$ comme des éléments de matrice

$$G=\begin{pmatrix} g(\Omega^{(1)}, \Omega^{(1)}) & \ldots & g(\Omega^{(1)}, \Omega^{(r)}) \\ g(\Omega^{(r)}, \Omega^{(1)}) & \ldots & g(\Omega^{(r)}, \Omega^{(r)}) \end{pmatrix}. \tag{3.29}$$

Désignons

$$g\left(\Omega_{i-1}^{(m)},\ \Omega_i^{(n)}\right)=G_{\Omega_{i-1}^{(m)},\ \Omega_i^{(n)}}. \tag{3.30}$$

La somme statistique (3.27) est alors récrite sous la forme

$$Z=\sum_{\Omega_1}\sum_{\Omega_2}\ldots\sum_{\Omega_N} G_{\Omega_0\Omega_1}G_{\Omega_1\Omega_2}\ldots G_{\Omega_{N-1}\Omega_N} \tag{3.31}$$

et, selon la règle de multiplication des matrices, on trouve

$$Z=\sum_{\Omega_N} G^N_{\Omega_0\Omega_N}. \tag{3.32}$$

En introduisant la condition de cyclicité $\Omega_0 = \Omega_N$ (cette condition ne joue aucun rôle, lorsque $N \gg 1$), on obtient Z sous forme de la trace Tr/G^N, i.e. de la somme des termes diagonaux de la matrice G élevée à la puissance N :

$$Z = \mathrm{Tr}\, G^N = \lambda_1^N + \lambda_2^N + \ldots + \lambda_r^N, \tag{3.33}$$

où λ_n sont les nombres propres de la matrice G. Tous les éléments de la matrice sont positifs. Il s'ensuit qu'elle a le nombre propre maximal λ_1 qui est réel, positif et non dégénéré (théorème de Frobenius). Lorsque $N \gg 1$,

$$Z \approx \lambda_1^N. \tag{3.34}$$

Ainsi, le calcul de la somme statistique rotamère se ramène à trouver la racine maximale de la matrice λ_1. Connaissant Z, on peut calculer les caractéristiques des macromolécules à l'équilibre. En particulier, on trouve par cette méthode la longueur quadratique moyenne de la pelote $\overline{h^2}$ (v. (3.20), ainsi que les formules tenant compte de la corrélation des rotamères).

Appliquons cette méthode à l'extension du modèle coopératif unidimensionnel de la figure 3.9 par une force extérieure f. Supposons que l'énergie du rotamère t (celle de deux chaînons parallèles voisins) est égale à $-E$ et que l'énergie du rotamère s (deux chaînons voisins antiparallèles) est égale à E. La différence d'énergie des rotamères s'écrira donc

$$\Delta E = 2E. \tag{3.35}$$

Ecrivons cette condition sous la forme

$$E_{ij}=\begin{cases} -E\sigma_i\sigma_j, & \text{lorsque } i=j+1,\\ 0, & \text{lorsque } i\neq j+1\end{cases} \tag{3.36}$$

Ici $\sigma_i = 1$, si le chaînon (la flèche) est tourné vers la droite, et $\sigma_i = -1$, s'il est tourné vers la gauche ; i et j sont des numéros de chaînons. L'énergie $E_{ij} = 0$, lorsque les chaînons en question ne sont pas voisins : la corrélation ne concerne que les flèches voisines. Lorsqu'il y a une force extérieure f qui oriente les flèches vers la droite, chaque chaînon de longueur l acquiert une énergie supplémentaire

$$E_f = -lf\cos\varphi = -lf\sigma_i, \tag{3.37}$$

où φ est l'angle formé par la direction du chaînon et la force extérieure. Comme chaque flèche ne peut avoir que deux positions, la matrice G a l'ordre $r = 2$. Selon (3.28) on trouve

$$g(\sigma_j,\ \sigma_{j+1}) = \exp\left(\frac{E}{kT}\sigma_j\sigma_{j+1}+\frac{lf}{kT}\sigma_j\right), \tag{3.38}$$

et la matrice G s'obtient par substitution des valeurs de σ_j et σ_{j+1} égales à $+1$ et -1:

$$G=\begin{pmatrix} g(1,\ 1) & g(\ 1,\ -1) \\ g(-1,\ 1) & g(-1,\ -1) \end{pmatrix}. \tag{3.39}$$

En introduisant les notations $a = E/kT$ et $b = lf/kT$, on a

$$G=\begin{pmatrix} \exp(a+b) & \exp(-a+b) \\ \exp(-a-b) & \exp(a-b) \end{pmatrix}. \tag{3.40}$$

On tire les nombres propres de l'équation

$$\begin{vmatrix} \exp(a+b)-\lambda & \exp(-a+b) \\ \exp(-a-b) & \exp(a-b)-\lambda \end{vmatrix}=0. \tag{3.41}$$

Ils valent

$$\lambda_{1,\ 2} = e^{a} \operatorname{ch} b \pm (e^{2a} \operatorname{sh}^2 b + e^{-2a})^{1/2}. \tag{3.42}$$

Comme $\lambda_1 > \lambda_2$, il vient, conformément à (3.34),

$$Z \approx \lambda_1^N = [e^a \operatorname{ch} b + (e^{2a} \operatorname{sh}^2 b + e^{-2a})^{1/2}]^N. \tag{3.43}$$

Nous avons obtenu une expression analytique simple pour la somme statistique. Elle nous aidera à calculer la longueur moyenne de la chaîne:

$$\bar{h}=kT\frac{\partial \ln Z}{\partial f}=NkT\frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial f}=Nl\frac{\operatorname{sh} b}{(\operatorname{sh}^2 b+e^{-4a})^{1/2}}. \tag{3.44}$$

La grandeur a (égale à $\Delta E/kT$) sert ici de mesure pour la coopérativité. En l'absence de coopérativité, lorsque $a = 0$,

$$\bar{h}=Nl \operatorname{th} b=Nl \operatorname{th}\frac{lf}{kT}. \tag{3.45}$$

Lorsque l'orientation des flèches est libre, la chaîne est d'autant plus longue que la force est plus élevée et que la température est plus basse. Si les forces sont petites $(fl \ll kT)$,

$$\bar{h} \approx Nl^2 f/kT \tag{3.46}$$

ou bien

$$f \approx \frac{kT}{Nl^2}\bar{h}, \tag{3.47}$$

i.e. la longueur de la chaîne est proportionnelle à la force de traction (loi de Hooke), le module d'élasticité étant proportionnel à la température absolue. Si, par contre, $a \gg 1$, soit $\Delta E \gg kT$, il devient possible de négliger e^{-4a} dans (3.44) et $\bar{h} = Nl$ indépendamment de la force. La chaîne est rigide, ce qui détermine son allongement. Le même résultat survient, lorsque les forces sont grandes: $fl \gg kT$. Dans ce cas, on a également $\operatorname{sh}^2 b \gg e^{-4a}$: la grande force étire complètement la chaîne.

La longueur quadratique moyenne d'une chaîne rotamère unidimensionnelle, en l'absence de force extérieure, se calcule directement suivant la formule (cf. (3.19)):

$$\overline{h^2}=Nl^2+2\sum_{i=2}^{N}\sum_{j=1}^{i-1}\overline{(l_i l_j)}=Nl^2\frac{1+\eta}{1-\eta}+2l^2\frac{\eta(\eta^N-1)}{(1-\eta)^2}, \tag{3.48}$$

η étant le cosinus moyen de l'angle formé par deux flèches voisines. Dans le cas considéré

$$\eta = \frac{\cos 0^\circ \cdot \exp(E/kT) + \cos 180^\circ \cdot \exp(-E/kT)}{\exp(E/kT) + \exp(-E/kT)} = \text{th}\,\frac{E}{kT} \qquad (3.49)$$

et pour $N \gg 1$

$$\overline{h^2} = Nl^2 \exp(2E/kT).$$

La corrélation qui découle de l'avantage que présente la disposition parallèle des flèches, conduit à l'allongement de la chaîne.

Les transformations conformationnelles des macromolécules sont coopératives aussi bien lors de la fusion d'un polymère cristallin que lors de l'extension de la chaîne.

§ 3.5. Pelote et globule

La structure primaire (chimique) d'une chaîne macromoléculaire est fixe: ses liaisons chimiques gardent leurs places respectives. Cela veut dire que l'état d'équilibre de la chaîne est en réalité un état d'équilibre partiel à mémoire linéaire fixe (Lifchitz). La présence d'une mémoire linéaire est la cause de certaines particularités dans les propriétés et la structure des macromolécules.

Nous avons déjà parlé de la rotamérisation de la macromolécule, i.e. des rotations autour des liaisons simples. Cette possibilité des rotations conduit à la formation d'une pelote, d'autant moins compacte (plus volumineuse) que la chaîne est moins flexible. Pour une chaîne suffisamment rigide on peut utiliser, en plus du modèle considéré, celui d'une barre élastique. Supposons que la chaîne est constituée de $N + 1$ chaînons de longueur l qui forment entre eux de petits angles successifs $\varphi_1, \varphi_2, \ldots, \varphi_N$. Le cosinus de l'angle formé par l'i-ème et l'$i + j$-ième chaînon est égal à

$$\cos \varphi_{i,\,i+j} = \frac{l_i l_{i+j}}{l^2} = (\overline{\cos \varphi})^j, \qquad (3.50)$$

où $\overline{\cos \varphi}$ est la valeur moyenne de $\cos \varphi$. Les φ étant petits,

$$\cos \varphi_{i,\,i+j} \approx (1 - \overline{\varphi^2}/2)^j \approx \exp(-j\overline{\varphi^2}/2), \qquad (3.51)$$

$$\cos \varphi_{1,\,N+1} \approx \exp(-N\overline{\varphi^2}/2) = \exp(-L/d), \qquad (3.52)$$

où $L = Nl$ est la longueur de contour de la chaîne et la quantité

$$d = 2l/\overline{\varphi^2} \qquad (3.53)$$

est ce qu'on appelle *longueur persistante* de la chaîne: paramètre qui caractérise la perte de corrélation entre chaînons lors d'un déplacement le long de la chaîne. La longueur persistante a le sens suivant: un segment de chaîne plus court que d peut être considéré en tant qu'une barre solide, les segments de longueur d pouvant tour-

ner indépendamment les uns des autres : ils sont articulés de façon libre. La théorie fournit l'expression suivante pour la longueur quadratique moyenne de la chaîne :

$$\overline{h^2} = 2d^2 (L/d - 1 + e^{-L/D}). \tag{3.54}$$

Si $L \ll d$, on a $\overline{h^2} \approx L^2$: la chaîne est allongée ; si $L \gg d$, on a $\overline{h^2} = 2dL$: la chaîne est pelotonnée, ayant un segment statistique de longueur $2d$. Même une chaîne très rigide se pelotonne, si elle est suffisamment longue.

Il est évident que dans une pelote des chaînons éloignés les uns des autres le long de la chaîne, peuvent se rapprocher. Cela conduit à des *effets de volume* (Flory). Les interactions des chaînons monomères dans une pelote sont analogues aux interactions des molécules dans un gaz réel : répulsion forte à petites distances, grâce à laquelle deux monomères ne peuvent se trouver à un même emplacement, et attraction faible à grandes distances. Les calculs ordinaires des dimensions de la pelote ne tiennent pas compte de ces effets. Néanmoins, ces calculs sont comparables à l'expérience relative à ce qu'on appelle point Θ de Flory : Θ est la température à laquelle, dans un solvant donné, les forces d'attraction sont compensées par les forces de répulsion, d'où l'absence d'effets de volume ; le point Θ est semblable au point de Boyle dans le cas d'un gaz réel. Lorsque $T > \Theta$, c'est la répulsion qui prédomine (bon solvant) ; si $T < \Theta$, c'est l'attraction qui prédomine (mauvais solvant). La pelote se gonfle ou se comprime.

La pelote macromoléculaire considérée en tant qu'un système fluctuant se caractérise par une corrélation de la densité : il existe une grandeur qui lie la variation de la densité en un point de l'espace occupé par la pelote à la variation de la densité en un autre point de cet espace. Il se trouve que le rayon de corrélation est du même ordre de grandeur que la dimension de la pelote. C'est la mémoire linéaire de la chaîne qui est la cause d'un rayon de corrélation aussi grand. Mais, si c'est ainsi, la densité de la pelote n'est pas une caractéristique thermodynamique : elle n'a aucune valeur constante qui soit certaine. En d'autres termes, la pelote macromoléculaire est constamment agitée de fluctuations macroscopiques. Seule la densité moyenne dans le temps a un sens.

La théorie de Flory considère la pelote polymère comme un nuage de monomères, sans tenir compte du fait qu'ils sont réunis en chaîne. Ce qu'il faut faire, c'est considérer non pas les interactions des monomères, mais celles des segments de chaîne. Autrement dit, la pelote polymère peut être représentée sous la forme d'un nuage de quasi-particules : quasi-monomères qui caractérisent les propriétés collectives de tous les monomères de la chaîne (Khokhlov). Cette théorie est plus stricte et fournit un bon accord avec l'expérience.

6—01676

Lorsqu'une attraction forte s'exerce entre les chaînons de la chaîne à $T < \Theta$ ou lorsque la pelote est soumise à l'action d'un champ extérieur de compression, la pelote se comprime en une structure compacte, le *globule*. C'est un processus analogue à la condensation d'un gaz en liquide. La théorie de la transition pelote-globule a été développée par Lifchitz, Grossberg et Khokhlov. La transition de phase pelote-globule et l'état du globule sont fonction des propriétés de la chaîne polymère. Si la chaîne est longue et peu flexible ($\rho^3 \gg r^3$, ρ^2 étant la distance quadratique moyenne entre monomères voisinant dans la pelote et r l'ordre de grandeur du rayon d'interaction entre chaînons) et si $T < \Theta$, la transition de phase est une transition de premier ordre avec saut de densité. Si la chaîne est flexible ($\rho^3 \approx r^3$), on est en présence d'une transition de phase graduelle de second ordre, le globule se gonflant progressivement pour atteindre les dimensions d'une pelote. Pour $\rho^3 \gg r^3$ le globule lui-même est un système biphasé constitué d'un noyau compact et d'une « bordure » fluctuante, dont la densité s'annule progressivement.

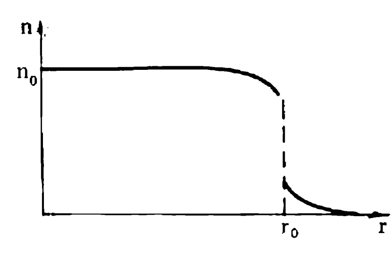


Fig. 3.10. Distribution de densité dans le globule

La figure 3.10 montre la distribution de densité dans un tel globule biphasé. Lorsque la température baisse, la densité de la bordure diminue de façon analogue à la densité de la vapeur au-dessus d'une goutte de liquide. Vu l'interdépendance des chaînons dans la chaîne à une température suffisamment basse, une chaîne courte forme un globule sans bordure. Le noyau du globule est similaire à un cristal et non à du liquide: il est caractérisé par l'entropie configurationnelle nulle. La formation du globule signifie le choix d'une seule configuration des chaînons, la plus favorable.

Il est à souligner que cette théorie se limite pour le moment à considérer la chaîne homopolymère, construite de chaînons monomères du même type.

§ 3.6. Méthodes d'étude des macromolécules

Quelle que soit leur structure chimique, les macromolécules sont caractérisées par une certaine masse moléculaire (M.M.) ou par la distribution de masses moléculaires. Elles ont aussi, en leur qualité de pelotes ou de globules, certaines dimensions et forme. Nous allons donc voir, quelles sont les méthodes de détermination expérimentale de ces caractéristiques.

Parmi les méthodes de détermination de la masse moléculaire la physique des polymères utilise de préférence l'*osmométrie*, la *visco-*

simétrie et la *sédimentation par centrifugation*. Cette dernière méthode est particulièrement usitée dans l'étude des biopolymères.

L'osmométrie est fondée sur la mesure de la pression osmotique p_{osm} d'une solution de polymère. Selon la loi de Van't Hoff,

$$p_{osm}/c = RT/M, \tag{3.55}$$

où c est la concentration de la solution (en g/cm³), M la masse moléculaire (dans le cas des polymères polydispersés M est la moyenne numérique de la M.M.). L'équation (3.55) est valable pour les solutions idéales. Dans une solution non idéale (c'est toujours le cas pour les solutions de polymères)

$$p_{osm} = \frac{RT}{M} c + Bc^2 + Cc^3 \ldots, \tag{3.56}$$

où B, C, etc., sont les deuxième, troisième, etc., *coefficients du viriel*. S'il s'agit d'une solution diluée, on peut négliger tous les termes à partir du troisième. La dépendance de p_{osm}/c avec c est linéaire; elle permet de trouver M et B.

La *viscosité intrinsèque* d'une solution de polymère s'écrit

$$[\eta] = \lim_{c \to 0} \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0 c}, \tag{3.57}$$

où η est la viscosité de la solution et η_0 la viscosité du solvant pur. La grandeur $[\eta]$ dépend de M. Il se trouve que pour une solution de pelotes polymères

$$[\eta] = AM^a, \tag{3.58}$$

et que $0,5 \leqslant a \leqslant 1,0$ suivant la perméabilité de la pelote au solvant. Pour une pelote complètement perméable $a = 1,0$; pour une pelote imperméable $a = 0,5$. Dans le cas d'une sphère rigide $a = 0$, dans celui d'une barre rigide et longue $a = 1,7$. La formule (3.58) peut servir à trouver M.M., si les constantes A et a ont été tirées de sources indépendantes.

La méthode faisant appel à la sédimentation consiste à faire précipiter les macromolécules sous l'action de la force centrifuge dans une ultracentrifugeuse, dont le rotor tourne avec une vitesse atteignant 10^4 à 10^5 tr/mn. L'accélération centrifuge est de loin supérieure à celle de la pesanteur (g): dans les ultracentrifugeuses modernes cette accélération peut être de 350 000g (70 000 tr/mn). La solution de polymère est placée dans un cylindre muni de regards en quartz cristallin (cellule) que l'on installe dans le rotor: l'observation se fait par des méthodes optiques.

Lorsque la vitesse de sédimentation est sensiblement supérieure à la vitesse de diffusion des macromolécules, ces dernières précipitent. La cellule présente alors deux zones distinctes: solvant pur et solution de polymère. Elles sont séparées par une zone de transition,

où la concentration en soluté c varie entre 0 et une certaine valeur maximale. Au fur et à mesure que la sédimentation se poursuit, cette zone et sa frontière se déplacent. On mesure la vitesse de déplacement de la frontière de sédimentation en direction du fond de la cellule (opposé à l'axe de rotation du rotor).

La macromolécule est soumise à la force centrifuge $V_m \rho_m \omega^2 x$, où V_m est le volume de la macromolécule, ρ_m sa densité, ω la vitesse angulaire de rotation du rotor, x la distance à l'axe de rotation. Mais en solution la macromolécule subit la force d'Archimède, ce qui rend la force centrifuge effective égale à $V_m (\rho_m - \rho_0)\, \omega^2 x$, ρ_0 étant la densité du solvant. Cette force est équilibrée par la force de frottement lors du déplacement de translation $\varkappa\, dx/dt$ ($\varkappa$ étant le coefficient de frottement). Par rapport à 1 mole on a

$$N_A V_m \rho_m (1 - \bar{V}_m \rho_0)\, \omega^2 x = \varkappa \frac{dx}{dt}, \tag{3.59}$$

où N_A est la constante d'Avogadro, $\bar{V}_m = \rho_m^{-1}$ le volume partiel spécifique de la macromolécule. Mais, d'autre part,

$$N_A V_m \rho_m = M. \tag{3.60}$$

Pour les solutions diluées $\varkappa$ s'exprime par le coefficient de diffusion D selon la formule d'Einstein :

$$\varkappa = RT/D. \tag{3.61}$$

Les expressions (3.59) à (3.62) conduisent à la formule de Svedberg

$$M = \frac{RTs}{(1 - \bar{V}_m \rho_0)\, D}, \tag{3.62}$$

s étant le *coefficient de sédimentation* :

$$s = \frac{1}{\omega^2 x} \frac{dx}{dt} \equiv \frac{1}{\omega^2} \frac{d \ln x}{dt}. \tag{3.63}$$

Le coefficient s est mesurable en secondes, mais normalement on le mesure en svedbergs (S) : 1S = 10^{-13} s.

Les positions successives dans le temps de la frontière de sédimentation sont photographiées dans la lumière ultraviolette. Après avoir mesuré s, D, ρ_m et ρ_0, on peut déterminer M. La valeur de s dépend de la concentration de la solution par suite de l'interaction hydrodynamique des molécules. La valeur de s, extrapolée pour la concentration nulle,

$$s_0 = \lim_{c \to 0} s, \tag{3.64}$$

est dite *constante de sédimentation*. Elle est d'autant plus élevée que M est plus grand. Ainsi, s_0 vaut 2,0 S pour la myoglobine, 4,5 S pour l'hémoglobine et 12,0 S pour la phycoérythrine. Les valeurs correspondantes de la masse moléculaire sont 17 600, 68 000, 290 000.

Lorsque la vitesse d'ultracentrifugation est moins élevée, il peut y avoir égalité des contre-courants de sédimentation et de diffusion. A coefficients de diffusion assez élevés l'équilibre s'installe vite et on observe une distribution équilibrée de la substance.

Si l'on désigne par c la concentration du polymère dissous à la distance x de l'axe de rotation, le nombre de molécules sédimentant pendant le temps dt à travers une unité de surface perpendiculaire à l'axe x, est égal à

$$c \frac{dx}{dt} dt,$$

où dx/dt est la vitesse de sédimentation à la distance x. Pendant le même temps dt la quantité de soluté diffusant à travers la même section vaut $D\,(dc/dx)\,dt$. A l'équilibre

$$c \frac{dx}{dt} = D \frac{dc}{dx}. \tag{3.65}$$

Or, selon (3.62) et (3.63),

$$\frac{dx}{dt} = s\omega^2 x = \frac{M(1-\overline{V}_{\mathrm{m}}\rho_0)}{RT} D\omega^2 x. \tag{3.66}$$

En substituant (3.66) dans (3.65), on obtient la seconde équation de Svedberg qui ne renferme plus le coefficient de diffusion D :

$$M = \frac{RT}{(1-\overline{V}_{\mathrm{m}}\rho_0)\,\omega^2 x} \frac{d \ln c}{dx}. \tag{3.67}$$

En intégrant cette équation dans l'intervalle entre x_1 et x_2, on trouve

$$M = \frac{2RT}{(1-\overline{V}_{\mathrm{m}}\rho_0)\,\omega^2} \frac{\ln (c_2/c_1)}{x_2^2 - x_1^2}. \tag{3.68}$$

Dans la méthode d'Archibald, qui est plus rapide et qui consomme moins de substance à analyser, on examine non pas l'équilibre lui-même, mais son rapprochement. L'écoulement de substance à travers le ménisque et le fond de la cellule est nul, indépendamment de l'installation de l'équilibre. On tire de (3.65) et (3.66) :

$$\frac{1}{x_m} \frac{1}{c_m} \left(\frac{dc}{dx}\right)_m = \frac{1}{x_0} \frac{1}{c_0} \left(\frac{dc}{dx}\right)_0 = \frac{s\omega^2}{D}. \tag{3.69}$$

L'indice m se rapporte au ménisque, 0 au fond de la cellule. On obtient à partir de (3.69) et (3.66) :

$$\left.\begin{aligned} M &= \frac{RT}{(1-\overline{V}_{\mathrm{m}}\rho_0)\,\omega^2} \frac{(dc/dx)_m}{x_m c_m}, \\ M &= \frac{RT}{(1-\overline{V}_{\mathrm{m}}\rho_0)\,\omega^2} \frac{(dc/dx)_0}{x_0 c_0}. \end{aligned}\right\} \tag{3.70}$$

Les deux valeurs de M coïncident pour un polymère homogène.

Une méthode importante pour la biophysique est la *sédimentation en gradient de densité*. Au cours de l'ultracentrifugation d'une solution concentrée d'une substance de faible poids moléculaire (CsCl, saccharose, etc.) on observe un gradient de concentration ou gradient de densité du solvant des macromolécules $d\rho_0/dx$. Dans une telle solution les macromolécules se disposeront dans la partie de la cellule, pour laquelle $s = 0$, soit, suivant (3.66), $\overline{V}_m\rho_0 = 1$ ou $\rho_0 = \rho_m$. En d'autres termes, les macromolécules se localiseront là où la densité de la solution concentrée coïncide avec la densité des macromolécules (ρ_m est mesuré de façon directe). Le mélange hétérogène de macromolécules est séparé et on observe le spectre de densités. Cette technique est très efficace lors de l'étude des acides nucléiques.

La diffusion est décrite par l'équation de Fick:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\frac{\partial^2 c}{\partial x^2}. \qquad (3.71)$$

D est trouvé à l'aide de (3.71). Le gradient de concentration et la vitesse de variation de la concentration sont déterminés par des méthodes optiques. Dans une cellule spéciale une couche de solvant pur est introduite au-dessus de la solution pour examiner la réfraction ou l'interférence de la lumière.

Dans le cas de solutions réelles d'une concentration assez élevée la formule d'Einstein (3.61) peut être remplacée par l'expression (cf. (3.56))

$$D = \frac{1}{\varkappa}(RT + 2BMc + 3CMc^2 + \ldots), \qquad (3.72)$$

i.e. D dépend de la concentration. Le coefficient de frottemenr $\varkappa$ dépend de la forme de la macromolécule et de sa perméabilité au solvant. Les sphères solides de rayon r obéissent à la loi de Stokes

$$\varkappa_{sph} = 6\pi\eta_0 r. \qquad (3.73)$$

Pour les particules non sphériques les coefficients de frottement sont différents suivant que le sens du mouvement coïncide avec l'axe longitudinal ou transversal de la particule. Le coefficient de frottement moyen d'un ellipsoïde est supérieur à celui de la sphère de même volume. Le coefficient de frottement et la viscosité sont particulièrement élevés dans le cas des molécules longues ayant la forme d'une barre.

Les méthodes optiques renseignent sur la masse moléculaire et la forme des macromolécules. L'intensité de la lumière diffusée par une solution de polymère est fonction de M. Par suite de la diffusion l'intensité de la lumière traversant une solution diminue conformément à la loi

$$I = I_0 \exp(-\chi l), \qquad (3.74)$$

où I_0 est l'intensité de la lumière incidente, l le chemin parcouru par le rayon lumineux dans la solution, χ le coefficient de turbidité. La théorie de la diffusion de la lumière donne

$$\chi = \frac{8\pi}{3} HcM, \tag{3.75}$$

où

$$H = \frac{4\pi^2 n_0^2}{N_A \lambda^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2. \tag{3.76}$$

Ici n_0 et n sont les indices de réfraction du solvant et de la solution, λ la longueur d'onde de la lumière, N_A la constante d'Avogadro. La valeur de M est déduite de la mesure du coefficient de turbidité.

Lorsque la lumière est diffusée par des macromolécules, dont les dimensions sont commensurables avec la longueur d'onde de la lumière, on observe l'*effet Mie*: une dépendance angulaire spécifique pour l'intensité de la lumière, lorsque la lumière diffusée vers l'avant est plus intense que celle diffusée vers l'arrière. L'effet Mie résulte de l'interférence des ondes lumineuses qui sont diffusées par les différentes parties de la molécule avec un déphasage.

L'effet Mie est lié à un épisode curieux dans l'histoire de la biophysique. On n'arrivait pas à observer, dans le spectre du sang, certaines bandes d'absorption caractéristiques de l'hémoglobine en solution. Cette circonstance a fait avancer l'idée que l'hémoglobine des érythrocytes était modifiée. On n'a appris que plus tard que l'absorption de la lumière par l'hémoglobine était dissimulée par l'effet Mie: les érythrocytes diffusaient la lumière plus intensément vers l'avant.

Debye a calculé la fonction de diffusion $P(\vartheta)$ qui est le rapport de l'intensité de la lumière diffusée sous l'angle ϑ à l'intensité de la lumière incidente:

$$P(\vartheta) = I_\vartheta / I_0, \tag{3.77}$$

pour les macromolécules de formes différentes: sphères, ellipsoïdes, bâtonnets. La mesure de la fonction de diffusion permet de déterminer la forme de la macromolécule. La méthode de Zimm donne la possibilité de mesurer simultanément la masse moléculaire et les dimensions des macromolécules.

L'étude de la diffusion des rayons X par les solutions de biopolymères fournit une information bien précieuse sur ces derniers (v. Chapitre 5).

La détermination de la forme des macromolécules (et de leur polarisabilité anisotrope) est également possible en utilisant la biréfringence dans un courant (*effet dynamooptique de Maxwell*). Un dynamooptimètre est constitué par deux cylindres coaxiaux, le liquide à analyser (solution de polymère) étant placé entre les parois des cylindres. Le cylindre intérieur — le rotor — tourne autour de

l'axe commun en entraînant le liquide. Il en résulte un gradient de vitesse : la couche adjacente à la paroi du rotor se meut le plus vite, la couche qui touche à la parois du cylindre fixe demeurant immobile. Par suite les macromolécules se trouvent orientées dans la solution et soumises à un effort de traction. Le liquide devient anisotrope, tel qu'un cristal biaxial. La biréfringence est observée parallèlement à l'axe du dynamooptimètre. Sa mesure fournit les renseignements précités.

Par contre, la méthode faisant appel à la biréfringence dans un champ électrique (effet Kerr) est peu prometteuse dans le cas des biopolymères qui sont des polyélectrolytes : les macromolécules, porteuses de charges, sont non seulement orientées, mais aussi déplacées dans un champ électrique.

§ 3.7. Polyélectrolytes

De nombreuses macromolécules, dont les protéines et les acides nucléiques, mises en solution aqueuse, deviennent des macroions, porteurs d'une multitude de groupes chargés. Tel est, par exemple, l'acide polyméthacrylique

$$\left[\begin{array}{l}-\underset{|}{C}(CH_3)-CH_2- \\ \;\;COO^-\end{array}\right]_n,$$

qui est un polyanion. Les biopolymères se présentent comme des polyampholytes : ils renferment à la fois des groupes anioniques et cationiques. Les protéines comportent des résidus acides (Glu, Asp, Tyr) et basiques (Arg, His, Lys) (v. p. 25), tandis que dans les acides nucléiques on trouve les groupes phosphate acides et les groupes basiques provenant des bases azotées : $N\equiv$, $HN=$, H_2N-.

Il existe aussi bien des macroions solides (protéines globulaires, etc.) que des chaînes polyélectrolytiques flexibles. Il est évident que les propriétés de ces macromolécules dépendent essentiellement de l'interaction des charges qu'elles renferment. Les valeurs de ces charges sont fonction des degrés de dissociation des groupes ionogènes, ainsi que de l'atmosphère ionique qui les entoure.

La conformation d'une chaîne polyélectrolytique flexible est déterminée par la condition de minimum pour la somme des énergies libres conformationnelle et électrique. Naturellement, la présence, dans la chaîne, de charges de même nom implique leur répulsion mutuelle qui conduit à l'étalement de la pelote qui grossit. L'énergie électrostatique libre d'une pelote est calculée compte tenu de l'atmosphère ionique. Flory a créé une théorie des dimensions des chaînes des polyélectrolytes analogue à sa théorie des effets de volume (p. 81). Il y est supposé que la pelote entière avec le solvant qu'elle immobilise est électriquement neutre. Le calcul montre que les interactions

électrostatiques ne peuvent transformer la pelote en une chaîne allongée : la pelote ne fait que gonfler. Cela s'accorde avec les données expérimentales qui montrent une dépendance de la viscosité intrinsèque [η] avec la masse moléculaire. Une théorie statistique plus rigoureuse des macromolécules chargées tient compte du fait que, par suite du blindage par contre-ions, les groupes chargés de la macromolécule éloignés les uns des autres le long de la chaîne ne peuvent entrer en interaction qu'au cas d'un rapprochement accidentel dû aux fluctuations. Il découle de cette théorie que les propriétés conformationnelles des macromolécules chargées occupent une position intermédiaire entre celles des pelotes statistiques non gonflées et celles des bâtonnets rigides. Pour les polyélectrolytes $\overline{h^2} \sim M^{4/3}$ et $[\eta] \sim M$ (cf. p. 83). Ces resultats sont en accord avec l'expérience (en particulier, pour l'ADN dénaturé). Le carré du coefficient de gonflement linéaire est proportionnel à $I^{-2/3}$ (I est la force ionique, v. p. 29).

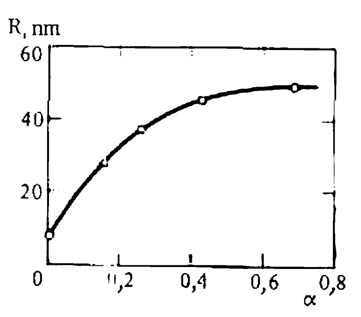


Fig. 3.11. Rayon de giration des macromolécules d'acide polyméthacrylique en fonction du degré de dissociation des groupes carboxyliques

L'étalement maximal d'une macromolécule de polyélectrolyte est atteint, lorsque la force ionique est faible. La figure 3.11 montre l'influence de la charge sur le rayon de giration de la macromolécule d'acide polyméthacrylique. Ces données ont été obtenues par la méthode de diffusion de la lumière pour les solutions non salines. Le degré de dissociation du polyacide est ajusté en ajoutant une base. Il est certain que dans ce cas la force ionique ne demeure pas inchangée.

L'expansion de la pelote devient plus importante, lorsqu'on dilue la solution, car la diminution de la concentration du polyélectrolyte, le degré de dissociation demeurant constant, se traduit par un affaiblissement de la force ionique. Pour obtenir une information sur la structure et les propriétés des macromolécules de polyélectrolytes en solution, on utilise la dilution isoionique : la solution de polyélectrolyte est diluée avec une solution de sel, dont la force ionique est égale à celle de la solution de polyélectrolyte la plus concentrée afin de maintenir constante la concentration totale en contre-ions. Dans ces conditions $(\eta - \eta_0)/\eta_0 c$ est une fonction linéaire de c.

La fixation des contre-ions par les groupes chargés d'un polyélectrolyte peut être spécifique : une telle fixation dépend de la nature chimique du macroion, ainsi que du petit ion. Il faut savoir distinguer cette fixation spécifique qui se ramène à la formation de liaisons salines en certains points de la macromolécule, de la fixation

non spécifique : formation de l'atmosphère ionique. Dans une liaison saline la distance qui sépare le contre-ion du groupe chargé du polyion est beaucoup moins grande que la distance entre ce groupe et les contre-ions mobiles. La fixation spécifique des contre-ions détermine les propriétés d'échange d'ions des polyélectrolytes, propriétés qui ont d'importantes applications pratiques. Les polyélectrolytes insolubles, réticulés à l'aide de liaisons transversales, gonflant dans l'eau ou dans d'autres milieux liquides, sont utilisés en qualité de résines échangeuses d'ions (*ionites*). Les ionites sont capables de sorber certains ions à partir de leurs solutions, ce qui est utilisé pour l'épuration et la séparation de divers électrolytes, ainsi que pour débarrasser les non-électrolytes des impuretés ioniques.

Dans les polyampholytes et, donc, dans les biopolymères il y a possibilité de formation de liaisons salines entre des groupes cationiques et anioniques d'une même chaîne ou de chaînes différentes. En étudiant la structure et les propriétés des biopolymères, il faut obligatoirement tenir compte de leur nature polyampholytique, ce qui suppose la prise en compte du pH et de la force ionique du milieu. La structure des molécules natives (biologiquement fonctionnelles) de protéines et d'acides nucléiques est déterminée dans une large mesure par des interactions électrostatiques, ioniques. L'interaction avec les petits ions du milieu n'est pas moins importante. L'interaction des protéines avec les ions K^+, Na^+, Ca^{++}, Mg^{++} détermine des phénomènes biologiques essentiels, dont la génération et la propagation de l'influx nerveux ou la contraction musculaire. La structure fonctionnelle des acides nucléiques et leur participation à la biosynthèse des protéines sont également liées aux cations alcalins et alcalinoterreux.

Les propriétés des polyélectrolytes permettent de simuler certains processus mécanochimiques, tels que la contraction musculaire (v. Chapitre 12).

Les propriétés polyélectrolytiques des protéines rendent possibles leur séparation et étude par *électrophorèse*. Si la solution renfermant des particules chargées se trouve dans un champ électrique, les particules se déplacent vers les électrodes correspondantes. La mobilité électrophorétique d'une protéine dépend de la charge totale de sa molécule pour certaines valeurs du pH et de la force ionique. Il existe des méthodes électrophorétiques pour l'analyse des protéines et de leurs mélanges. Dans la méthode dite électrophorèse en phase libre on détermine la vitesse de déplacement, dans le champ électrique, de la frontière nette entre la solution du corps examiné et le solvant. L'électrophorèse de zone est utilisée pour la séparation préparative de mélanges de protéines. La solution à analyser est d'abord placée sous forme d'une mince couche entre deux couches de solvant. Après un temps assez prolongé les substances qui ont des mobilités différentes s'écartent considérablement

les unes des autres, leurs zones respectives cessent de se recouvrir et il devient possible d'extraire les produits de séparation de la solution. La séparation est empêchée du fait que les zones se déplacent par convection. On réduit la convection au minimum en utilisant des supports poreux: gels, papier-filtre, etc. On arrive à stabiliser le système en se servant de la méthode de gradient de densité (v. p. 86). Dans ce cas l'électrophorèse est effectuée dans un tube vertical qui renferme une solution tampon, dont la densité augmente du haut vers le bas, présentant ainsi un gradient de densité.

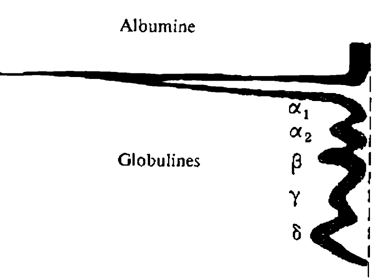


Fig. 3.12. Electrophorégramme

Ainsi que dans le cas de la sédimentation ou de la diffusion, les résultats de l'électrophorèse sont enregistrés à l'aide de méthodes optiques. L'électrophorégramme obtenu (fig. 3.12) est composé d'une série de pics répondant aux différents composants du mélange. L'aire d'un pic caractérise la proportion du composant correspondant.

CHAPITRE 4

PHYSIQUE DES PROTÉINES

§ 4.1. Tâches de la physique des protéines

Les protéines participent à tous les processus vitaux. Les protéines-*enzymes* catalysent tous les processus chimiques, électrochimiques et mécanochimiques dans les cellules et les organismes. On peut dire que l'activité enzymatique est la plus importante fonction des protéines. Des enzymes spécialisés servent de catalyseurs dans toutes les réactions métaboliques, dans la réplication des ADN, dans la transcription du texte des ADN en celui des ARNm, dans le transfert de ce texte lors de la biosynthèse protéique. Les protéines sont en plus des régulateurs des fonctions génétiques des acides nucléiques. Les enzymes régulateurs, dits *enzymes allostériques* (Chapitre 6), assurent les rétroactions dans les chaînes métaboliques.

Le mouvement des cellules et des organismes, le travail mécanique (musculaire, par exemple) qu'ils accomplissent sont le fait de protéines contractiles particulières qui sont les substances actives de ces processus. Les protéines contractiles remplissent une fonction enzymatique en transformant l'énergie chimique accumulée dans l'ATP (v. p. 40) en travail mécanique. La « recharge d'accumulateur », c'est-à-dire la phosphorylation oxydative dans les membranes des mitochondries, ne peut se produire sans intervention des enzymes de la chaîne respiratoire. Des réactions enzymatiques d'oxydoréduction ont également lieu lors de la photosynthèse. D'autres protéines des membranes sont responsables du transport actif des molécules et des ions à travers les membranes et, par là, de la génération et de la propagation de l'influx nerveux. Les protéines déterminent tous les processus métaboliques et bioénergétiques.

On trouve dans les organismes animaux quelques protéines à fonctions spéciales. Il y en a qui servent à accumuler (myoglobine) et à transporter (hémoglobine, hémocyanine) l'oxygène. Certaines protéines bas-moléculaires (polypeptides) sont des hormones (p. 51). Les gamma-globulines des organismes supérieurs les protègent contre les biopolymères étrangers : elles fonctionnent en qualité d'anticorps dans les phénomènes d'immunité. Enfin, les protéines qui entrent dans la composition des tissus conjonctifs, des cartilages et des ten-

dons, ainsi que les protéines de la peau, des cheveux et des plumes ont une fonction de soutien, assurant une liaison solide et, en même temps, mobile entre organes, l'intégrité de l'organisme et sa résistance aux effets extérieurs.

On peut dire que les protéines sont des participants indispensables de stockage, transfert, transformation et réception des signaux chimiques (macromolécules, molécules et ions) dans les systèmes vivants. Dans beaucoup de cas les protéines elles-mêmes servent de signaux, ainsi que de leurs récepteurs et agents de transformation. Les protéines des systèmes récepteurs de l'organisme transcodent les signaux extérieurs en langage chimique et électrochimique.

Les molécules protéiques sont les plus complexes de toutes celles que la science connaît. Leur structure spatiale biologiquement fonctionnelle, ainsi que la structure des systèmes supramoléculaires qui contiennent les protéines (membranes, etc.), dépendent aussi bien des liaisons chimiques dans les chaînes protéiques que de toute une gamme d'interactions faibles. Les protéines natives ne sont jamais des pelotes statistiques. Les globules protéiques se présentent comme des cristaux apériodiques de structure complexe. Ce sont des systèmes dynamiques et non statistiques, une sorte de machines, dont le comportement est fonction de la situation et des propriétés de tous leurs éléments. A côté des protéines globulaires il existe également des protéines fibrillaires: celles de contraction et de soutien.

La *dénaturation* d'une protéine, lorsqu'elle perd sa fonctionnalité biologique par chauffage, action d'acides ou de bases, etc., consiste en destruction des interactions faibles, ce qui transforme le cristal apériodique (globulaire ou fibrillaire) en pelote statistique.

Voici donc les tâches principales de la physique des protéines:

1. Etude théorique et expérimentale de la structure des molécules protéiques et des systèmes supramoléculaires qui les contiennent.

2. Etablissement d'une relation entre la structure primaire de la chaîne protéique et la structure spatiale de la macromolécule native: ce problème se rattache directement aux études mentionnées ci-dessus.

3. Etude des mécanismes physiques de la formation de la structure primaire des protéines: codage génétique, traduction du texte génétique, régulation protéique de l'action des gènes.

4. Etude des mécanismes physiques qui servent de base aux différentes fonctions biologiques des protéines et, avant tout, à l'activité enzymatique.

Une fois tous ces problèmes résolus, on découvrira l'essence des phénomènes biologiques dans les cellules et les organismes sur la base moléculaire, physique (et chimique).

§ 4.2. Conformations de la chaîne polypeptidique

Pour pouvoir comprendre la structure des protéines, il faut tout d'abord examiner les conformations possibles de la chaîne polypeptidique. Elles sont déterminées, avant tout, par la structure plane

Tableau 4.1

Paramètres structuraux des unités peptidiques : longueurs des liaisons et angles formés par les liaisons

Liaisons	Longueurs, nm	Angles, degrés	
C^{α}—C	0,153	$C^{\alpha}CN$	114
C—N	0,132	OCN	125
N—C^{α}	0,147	$C^{\alpha}CO$	121
C=O	0,124	CNC^{α}	123
N—H	0,100	CNH	123
C^{α}—C^{β}	0,154	HNC^{α}	114
C^{α}—H	0,107	$XC^{\alpha}Y$	109,5

de la liaison peptidique —CO—NH— (p. 32). Les paramètres structuraux des unités peptidiques, établis par radiocristallographie des peptides et des composés apparentés, figurent dans le tableau 4.1.

Fig. 4.1. Fragment d'une chaîne protéique

Le sens des désignations C^{α} et C^{β} est montré sur la figure 4.1 ; X et Y sont les atomes, auxquels l'atome C^{α} est lié dans la chaîne principale, ainsi que dans l'appendice R. La chaîne complètement allongée (sans déformation des angles de valence et sans changement des longueurs de liaison) a la conformation *trans* avec les valeurs nulles des angles de rotation φ, ψ et ω (fig. 4.1).

Mais cette conformation n'est pas la plus stable. Les atomes H des groupes imine N—H forment des *liaisons hydrogène* avec les atomes O des carbonyles:

$$>C=O\ldots H-N<$$

(v. § 4.3).

Pour trouver la conformation la plus stable d'une chaîne polypeptidique, il faut minimiser son énergie totale, y compris l'énergie des liaisons hydrogène intramoléculaires.

Pauling et Corey ont déterminé les conformations les plus stables de la chaîne polypeptidique en se fondant sur les données fournies par la radiocristallographie, ainsi que sur l'hypothèse d'un assemblage compact des chaînes présentant le nombre maximal de liaisons hydrogène. Il y en a trois. C'est d'abord l'hélice α représentée sur la figure 4.2. Elle se caractérise par une rotation de 100° autour de l'axe et par un déplacement de 0,15 nm le long de l'axe par unité peptidique. Respectivement, à chaque tour complet d'hélice correspondent 3,6 unités peptidiques et un déplacement de 0,54 nm le long de l'axe. Les liaisons hydrogène se forment entre le groupe C=O de chaque unité et le groupe N—H de la quatrième unité précédente. Ces liaisons existent entre tous les résidus acides aminés, à l'exception du prolyle (Pro) qui n'a pas de groupe N—H. L'hélice α peut être droite ou gauche. Dans le premier cas $\varphi = 132°$, $\psi = 123°$; dans le second $\varphi = 228°$, $\psi = 237°$ (les angles sont comptés à partir de la conformation *trans* plane de la chaîne). La conformation en hélice α est déterminée, en particulier, par la disposition plane des atomes —CO—NH—.

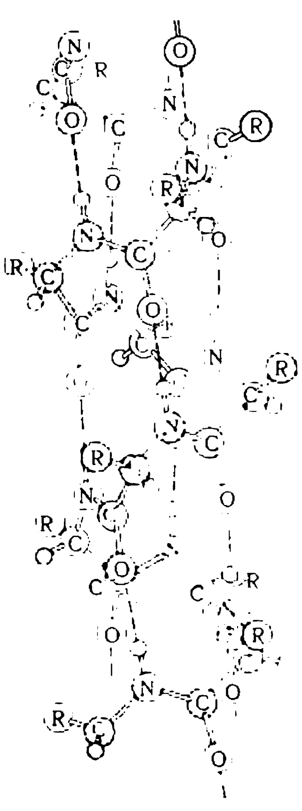


Fig. 4.2. Schéma de l'hélice α

La deuxième et la troisième conformation saturée au maximum en liaisons hydrogène (*formes* β *parallèle* et *antiparallèle*) sont montrées sur les figures 4.3 et 4.4. Ici il ne s'agit plus de conformations d'une chaîne isolée, mais d'un ensemble de chaînes formant une structure stratifiée. Les chaînes des formes β n'ont plus une structure *trans* plane (fig. 4.5). Dans la forme β parallèle $\varphi = 61°$, $\psi = 239°$; dans la forme antiparallèle $\varphi = 380°$, $\psi = 325°$.

Un fait important est la possibilité qu'a une chaîne polypeptidique isolée de prendre la forme β par des flexions systématiques. Une telle *forme* β *croisée* est schématisée sur la figure 4.6. Aux points de flexion les angles de rotation ont des valeurs différentes de celles caractéristiques des portions ordonnées.

Ainsi, les liaisons hydrogène stabilisent les conformations décrites de la chaîne polypeptidique (protéique) en solution. Il est convenu d'appeler une telle conformation structure secondaire de la

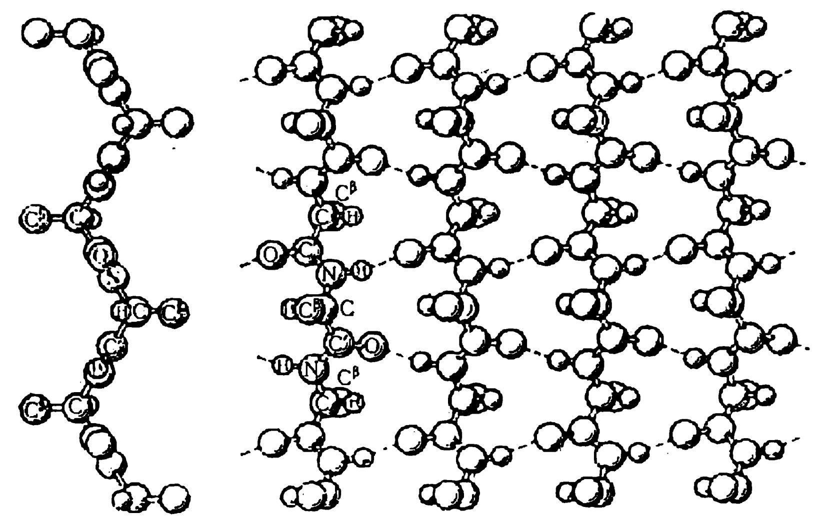


Fig. 4.3. Schéma de la forme β parallèle. A gauche, une chaîne isolée

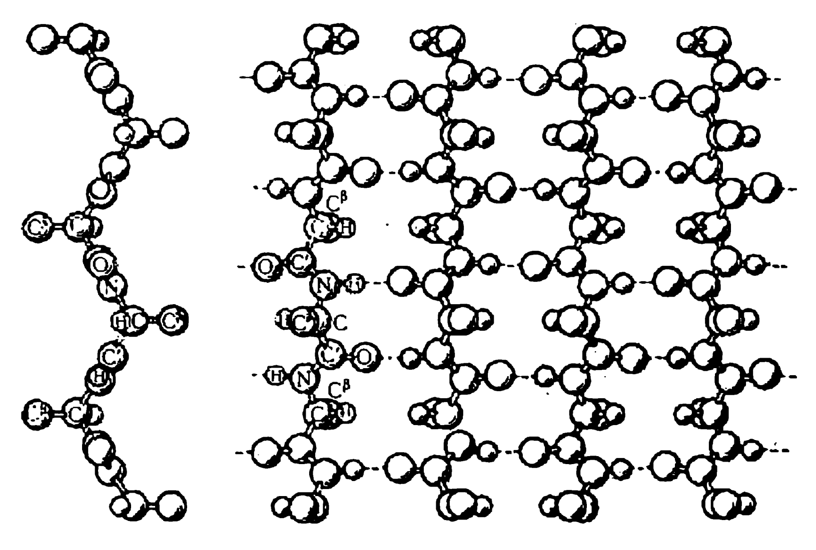


Fig. 4.4. Schéma de la forme β antiparallèle. A gauche une chaîne isolée

chaîne. La présence d'une structure secondaire, pourvue de périodicité, fait ressembler la chaîne à un cristal : l'hélice α est analogue à un cristal unidimensionnel et la forme β à un cristal à deux dimensions.

Les formes α et β ne sont pas les seules. En particulier, les protéines fibrillaires (§ 4.9) possèdent d'autres conformations. Maintenant nous allons considérer les relations entre les énergies de la

Fig. 4.5. Structure générale de la forme β d'une chaîne polypeptidique

Fig. 4.6. Schéma d'une forme β croisée

chaîne polypeptidique et les angles de rotation interne φ et ψ : c'est ce qu'on appelle cartes stériques, semblables aux cartes géodésiques.

L'énergie conformationnelle de la chaîne est fonction des interactions faibles entre atomes non liés de façon valentielle. Par suite de la structure plane du groupe peptide, les angles de rotation φ_i et ψ_i de l'i-ème chaînon sont pratiquement indépendants des angles φ_{i+1} et ψ_{i+1} du chaînon voisin. Si les angles φ_i et ψ_i varient dans un domaine des valeurs non interdites par recouvrement des atomes des groupes peptidiques réunis par les liaisons de l'i-ème et de l'$(i+1)$-ième chaînon, et s'il y a simultanément variation des angles φ_{i+1} et ψ_{i+1}, il n'existe aucune combinaison de ces quatre angles, pour laquelle l'interaction stérique entre l'i-ème et l'$(i+2)$-ième chaînon serait possible. La chaîne polypeptidique ne présente donc qu'une coopérativité limitée : les interactions locales n'y font intervenir que les voisins immédiats. Cela permet de considérer séparément les énergies conformationnelles des résidus acides aminés isolés. La carte stérique pour un résidu donné dépend substentiellement de la nature de son radical R. On peut considérer que les interactions dans une paire donnée de groupes peptidiques caractérisent le résidu acide aminé qui joint ces groupes. Ramachandran

Tableau 4.2

Distances interatomiques de contact dans les polypeptides

Paire d'atomes	Distance ordinaire, nm	Distance minimale, nm	Paire d'atomes	Distance ordinaire, nm	Distance minimale, nm
C C	0,32	0,30	O N	0,27	0,26
C O	0,28	0,27	O H	0,24	0,22
C N	0,29	0,28	N N	0,27	0,26
C H	0,24	0,22	N H	0,24	0,22
O O	0,28	0,27	H H	0,20	0,19

a étudié le dipeptide glycyle-*L*-alanine ; il a obtenu la carte conformationnelle (stérique) pour l'alanine. Le calcul a été effectué sur la base de la plus simple hypothèse, selon laquelle les atomes seraient des sphères solides ayant des rayons de Van der Waals, dont les

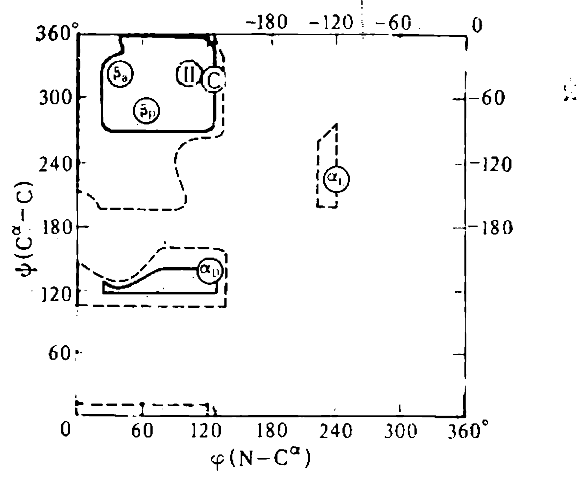


Fig. 4.7. Carte stérique pour la *L*-alanine (Ramachandran)

valeurs sont déterminées à partir des données relatives aux distances interatomiques dans les cristaux moléculaires. On trouvera dans le tableau 4.2 ces distances, les plus fréquentes dans les cristaux, ainsi que les distances minimales qui ne sont observables que bien rarement.

Lorsqu'on se sert du potentiel des sphères solides, on ne peut obtenir, évidemment, que les domaines permis et interdits pour les valeurs de φ et ψ. La figure 4.7 représente une telle carte pour l'alanine. Les lignes continues délimitent les domaines permis dans le

cas des distances interatomiques ordinaires, les lignes en pointillé représentant le cas des distances minimales. Sur la carte sont indiquées les valeurs de φ et ψ pour les hélices α droite et gauche (α_D et α_L), pour les formes β parallèle et antiparallèle (β_p et β_{ap}), ainsi que pour une protéine fibrillaire, le collagène (C). Des cartes analogues ont été obtenues pour d'autres résidus. Il est naturel que le domaine des valeurs permises de φ et ψ diminue, lorsque la taille du radical R augmente.

Un calcul plus rigoureux a été fait à l'aide du potentiel (cf. p. 66)

$$U(\varphi, \psi) = {}^1/_2 U^0_\varphi (1 - \cos 3\varphi) + {}^1/_2 U^0_\psi (1 - \cos 3\psi) + \\ + \sum_{i,j} U(r_{ij}) + U_C. \qquad (4.1)$$

Il est possible de prendre le potentiel $U(r_{ij})$ sous la forme « 6-12 » de Lennard-Jones ou bien « 6-exp » (p. 66) ; U_C caractérise l'interaction coulombienne (électrostatique) entre paires voisines de groupes peptidiques, interaction qui est déterminée par leurs moments dipolaires élevés atteignant 3,7 D.

Les barrières U^0_φ et U^0_ψ sont trouvées à partir des données obtenues lors de l'étude des petites molécules modèles. On a évidemment $2{,}1 < U^0_\varphi < 5{,}5$ kJ/mol (2,1 est la barrière pour H_3C—CO—OH ; 5,5 pour H_3C—CO—Cl) ; $U^0_\psi < 6{,}3$ kJ/mol. Ces barrières sont petites, de loin inférieures à celles des hydrocarbures.

Les constantes pour le potentiel « 6-12 » figurent au tableau 3.2 (p. 67). Le calcul de U_C est empêché du fait que l'on ne connaît pas la valeur de la permittivité ε qui figure dans la loi de Coulomb :

$$U_C = \sum_{i,j} \frac{e_i e_j}{\varepsilon r_{ij}}, \qquad (4.2)$$

e_i et e_j étant les charges portées par les atomes i et j. Lorsque les atomes en interaction ne sont pas séparés par d'autres atomes ou molécules de solvant (eau), $\varepsilon \approx 3$. Cette valeur correspond à un environnement organique constitué d'hydrocarbures.

Dans le cas des atomes O et N joints par une liaison hydrogène, il est possible de se servir de la fonction $U_{1.h} = U_{ij} + U_C$ que l'on déduit des valeurs de l'énergie de la liaison hydrogène et des distances d'équilibre O . . . . H—N.

L'expression (4.1) ne prend pas en considération les écarts des longueurs de liaison et des angles de valence, écarts qui sont probablement petits. Elle caractérise une chaîne polypeptidique isolée. En présence d'un environnement aqueux il faut tenir compte de la variation de l'énergie libre des molécules H_2O quittant le solvate lors du contact entre les atomes. Strictement parlant, il faut minimiser la somme de l'énergie potentielle intramoléculaire et de l'énergie libre du solvant.

On a représenté sur la figure 4.8 la carte stérique pour l'alanine. Les chiffres sur les courbes indiquent la valeur de l'énergie U (4.1)

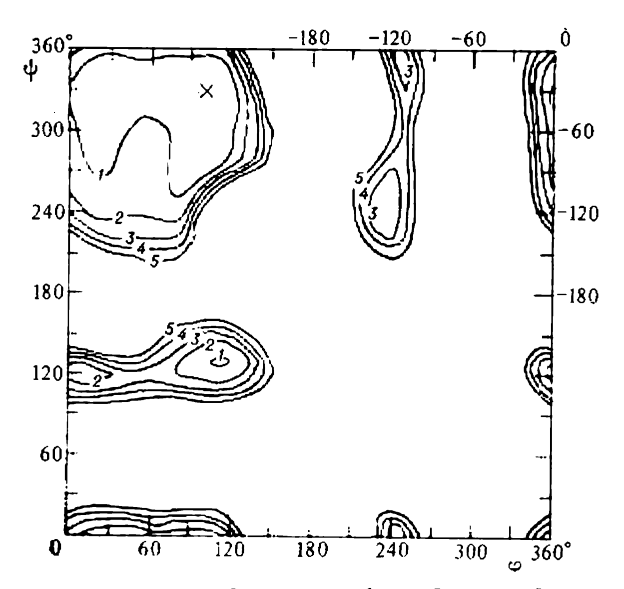


Fig. 4.8. Carte stérique pour la *L*-alanine (Flory)

en kcal/mol. Les géodésiques tracées répondent aux énergies de 4 à 20 kJ/mol. On a marqué d'une croix le minimum d'énergie. Il est intéressant de comparer les cartes des figures 4.8 et 4.7.

§ 4.3. Liaison hydrogène et structure de l'eau

Ainsi, les structures secondaires des chaînes protéiques sont stabilisées par des liaisons hydrogène ; ces liaisons jouent également un grand rôle dans la structure conformationnelle des acides nucléiques et des glucides.

Les biopolymères fonctionnent dans un environnement aqueux. Les propriétés particulières de l'eau qui la rendent composant indispensable des cellules et des organismes, sont également dues aux liaisons hydrogène. Penchons-nous sur la nature et les propriétés de la liaison hydrogène (v. p. 59).

La présence de cette liaison exerce une grande influence sur les propriétés physiques et physico-chimiques des substances. Les liaisons hydrogène intermoléculaires déterminent l'association des molécules. Les corps associés se caractérisent par des valeurs relativement élevées de la chaleur d'évaporation, par de hautes tempépératures de fusion et d'ébullition et par de fortes différences de ces

Tableau 4.3

Propriétés de quatre substances isoélectroniques

Substance	T_f, K	$T_{éb}$, K	Chaleur molaire d'évaporation, kJ/mol	Volume molaire, cm³/mol
Fluorure d'hydrogène HF	181	292	30,2	20,2
Eau H_2O	273	373	40,8	18,0
Ammoniac H_3N	195	240	23,4	20,8
Méthane H_4C	89	112	9,3	34,0

températures. Comparons quatre substances (tableau 4.3), dont les molécules sont *isoélectroniques*. Le méthane est un corps non associé, tandis que les trois autres sont associés au moyen de liaisons hydrogène.

Comparons les propriétés de deux substances isomères: l'éthanol et l'éther méthylique (tableau 4.4). L'éthanol comporte un groupe

Tableau 4.4

Propriétés de l'éthanol et de l'éther méthylique

Substance	T_f, K	$T_{éb}$, K	Chaleur molaire d'évaporation, kJ/mol
Ethanol C_2H_5OH	161	351	42,8
Ether méthylique $(CH_3)_2O$	135	249	18,7

OH qui forme une liaison hydrogène. L'éther méthylique n'a pas ce groupe.

Les substances associées à l'aide de liaisons hydrogène présentent des valeurs élevées de la permittivité ε. Ainsi, à 20 °C ε de l'eau vaut 80, de HCN 95, du formamide $HCONH_2$ 84, de NH_3 15,5. En même temps, pour l'éther éthylique $(C_2H_5)_2O$ $\varepsilon = 4,3$.

L'étude structurale des cristaux à liaisons hydrogène montre que lorsque l'atome d'hydrogène lie deux atomes électronégatifs A et B (O, N, F, Cl), la distance interatomique r_{AB} est inférieure à la somme des rayons de Van der Waals. Les sommes de ces rayons valent respectivement (en nm): 0,28 pour OO, 0,30 pour ON, 0,33 pour NN. En présence de liaisons hydrogène cette distance diminue jusqu'à 0,255 dans O—H....O, 0,280 dans O—H....N, 0,288 dans N—H....O, 0,310 dans N—H....N.

La liaison hydrogène est nettement manifestée dans les spectres optiques et les spectres RMN. Les fréquences de vibration caracté-

ristiques des groupes hydrogénés (O—H, N—H, ...) diminuent, lorsque l'hydrogène forme une liaison hydrogène. Ainsi, dans l'acide formique monomère H—CO—OH la fréquence de vibration du groupe O—H vaut 3682 cm^{-1}, alors que dans le dimère stabilisé par les liaisons hydrogène

```
        O....H—O
      //        \
  H—C            C—H
      \        //
        O—H....O
```

elle devient égale à 3080 cm^{-1}. Les autres fréquences du monomère varient elles aussi. Les bandes d'absorption infrarouges des groupes O—H s'élargissent considérablement et leurs intensités croissent sensiblement en présence de liaisons hydrogène. Cette liaison agit également sur les spectres électroniques en déplaçant les transitions $n\pi$ * (cf. p. 152) dans le sens des ondes courtes. Dans les spectres de la résonance magnétique protonique (RMP) on observe des déplacements chimiques provoqués par la liaison hydrogène. La spectroscopie RMP est le meilleur moyen d'étudier les liaisons hydrogène.

L'énergie de ces liaisons est déterminée par le biais des propriétés thermodynamiques des corps correspondants, des spectres et ainsi de suite. On exprime les fonctions thermodynamiques par la constante d'équilibre

$$K = \frac{\text{Activité du composé}}{\text{Produit des activités des réactifs}} \approx \frac{[\text{A—H} \ldots\ldots \text{B}]}{[\text{AH}]\,[\text{B}]}. \qquad (4.3)$$

Les crochets symbolisent les concentrations. L'énergie libre de formation de la liaison hydrogène s'écrit

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K, \qquad (4.4)$$

où ΔH est l'enthalpie, ΔS l'entropie de la formation de la liaison. On tire de (4.4)

$$\Delta H = RT^2 \left(\frac{\partial \ln K}{\partial T}\right)_p. \qquad (4.5)$$

Les valeurs de ΔH sont généralement comprises entre 12 et 30 kJ/mol: 11,8 pour l'eau, 25,6 pour la glace, 15,5 à 18,5 pour l'ammoniac, 28,1 à 29,4 pour HF.

Une liaison hydrogène avec le carbone est bien rare (c'est le cas dans HCN, dans le chloroforme $CHCl_3$ mélangé de pyridine C_5H_5N, etc.).

Cette liaison n'apparaît qu'entre deux atomes électronégatifs. L'atome H n'est pas complètement mis en commun par les atomes A et B ; la désignation A—H .... B, où le trait correspond à une liaison covalente et les pointillés à une liaison hydrogène, a un

sens réel. La radiocristallographie ne permet pas de déterminer de façon directe la position de l'atome H (v. p. 140), mais cela est possible par la méthode de diffractométrie neutronique (p. 148). Ainsi, dans le système O—H....O la liaison covalente est sensiblement plus courte et, donc, plus forte que la liaison hydrogène.

Dans ce système on voit se produire les transitions

$$O—H\ .\ .\ .\ .\ O \rightleftharpoons O\ .\ .\ .\ .\ H—O$$

La courbe qui représente l'énergie en fonction de la position que l'atome d'hydrogène occupe dans le système O—H....O (par exemple, dans l'acide formique dimère) présente deux minimums symétriques séparés par une barrière. La mécanique quantique permet de considérer la liaison hydrogène de façon quantitative, de calculer son énergie et sa longueur en bon accord avec l'expérience. Cette liaison a une nature complexe, son énergie recevant des contributions de toutes sortes : électrostatiques, dispersionnelles et quantomécaniques (ces dernières interactions sont déterminées par la délocalisation du proton et des électrons).

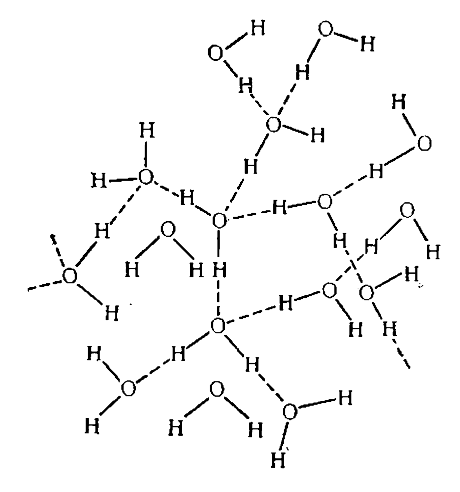


Fig. 4.9. Schéma de la structure de l'eau

Les liaisons hydrogène déterminent la structure de l'eau et de la glace. Chaque molécule d'eau peut former quatre liaisons hydrogène avec les molécules voisines (fig. 4.9), ces liaisons étant disposées en tétraèdre. La glace ordinaire (glace I) possède un réseau cristallin hexagonal, chaque atome d'oxygène du réseau étant situé au centre d'un tétraèdre, dont les sommets sont occupés par les atomes O voisins. Les distances O....O valent 0,276 nm. La maille élémentaire comporte quatre molécules. Le réseau moléculaire de la glace est bien peu compact, il possède beaucoup de vides, car son *nombre de coordination* est petit. Voilà pourquoi la glace est plus légère que l'eau. Cette propriété de la glace n'est point unique : elle est inhérente aux cristaux de diamant, de silicium et de germanium qui ont une structure analogue.

La structure caractéristique de la glace se conserve dans l'eau liquide, mais avec des perturbations d'autant plus importantes que la température est plus élevée. En parlant de la structure de l'eau, il faut toujours se référer à l'échelle temporelle, dans laquelle cette

structure est enregistrée. Les molécules H_2O du cristal de glace subissent des vibrations, des rotations et des déplacements de translation bien rares. Si l'exposition n'a duré qu'un temps τ de loin inférieur à la période de vibration $\tau_{vibr} \approx 2 \cdot 10^{-13}$ s, on obtient la structure instantanée (structure M) représentée sur la figure 4.10, *a*. Pendant un temps τ considérablement supérieur à τ_{vibr}, mais de loin inférieur au temps de la diffusion de rotation $\tau_{dif} \sim 10^{-5}$ s, les vibrations prennent une valeur moyenne, ce qui donne une image où les molécules sont disposées d'une façon régulière, mais où leurs orientations sont accidentelles: c'est la structure K (fig. 4.10, *b*).

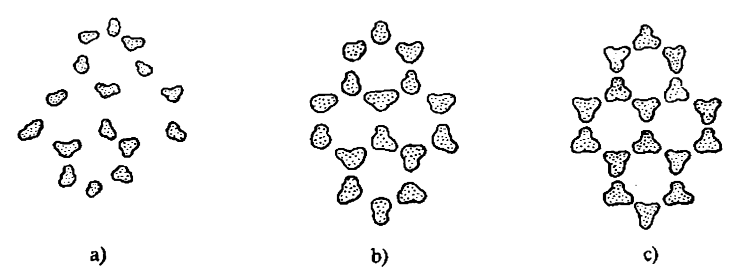


Fig. 4.10. Structures de l'eau: instantanée (*a*), à vibrations moyennes (*b*), à diffusion moyenne (*c*)

Enfin, lorsque $\tau \gg \tau_{dif}$, c'est-à-dire dans une expérience ordinaire, on obtient une structure K à diffusion moyenne (structure D, fig. 4.10, *c*). Dans l'eau liquide les structures M et K ressemblent aux structures cristallines, mais la structure D n'est pas nette du fait de déplacements moléculaires. Un appareil photo imaginaire placé sur une molécule d'eau et enregistrant les molécules environnantes au cours du mouvement de cette molécule, fournirait une image de la structure D qui la représenterait en tant que la moyenne des structures K du liquide.

En appliquant des méthodes d'étude différentes avec des temps τ variables, on obtiendra des renseignements relatifs aux différents types de la structure (fig. 4.11). Il va de soi que les propriétés thermodynamiques caractérisent la structure D du liquide.

Notons que les temps de relaxation les plus longs sont, pour l'eau, de l'ordre de 10^{-5} s (τ_{dif} pour la glace). Les assertions, publiées parfois, selon lesquelles l'eau « mémoriserait » les traitements subis (chauffage ou congélation), sont fondées sur des expériences mal conduites. Il n'existe aucune eau « thermiquement activée »; l'eau de fonte ne possède aucun caractère particulier.

La radiographie de l'eau fournit une fonction de distribution radiale qui montre les proportions des molécules séparées par telles ou telles distances. Lorsque la température varie de 4 à 120 °C, le maximum principal de cette fonction se déplace progressivement de

0,282 vers 0,294 nm. Dans cet intervalle le nombre de coordination est égal, en moyenne, à 4,4 (notons que ce nombre vaut 8,6 dans Ne liquide et 10,5 dans Ar). L'eau est donc quasi cristalline, chaque molécule possédant en moyenne quatre voisins. On a proposé plusieurs modèles théoriques de la structure de l'eau, qui s'accordent avec ces données, mais il est difficile, pour le moment, de faire le choix définitif. On peut toutefois considérer comme établie l'interprétation des propriétés physiques les plus importantes de l'eau,

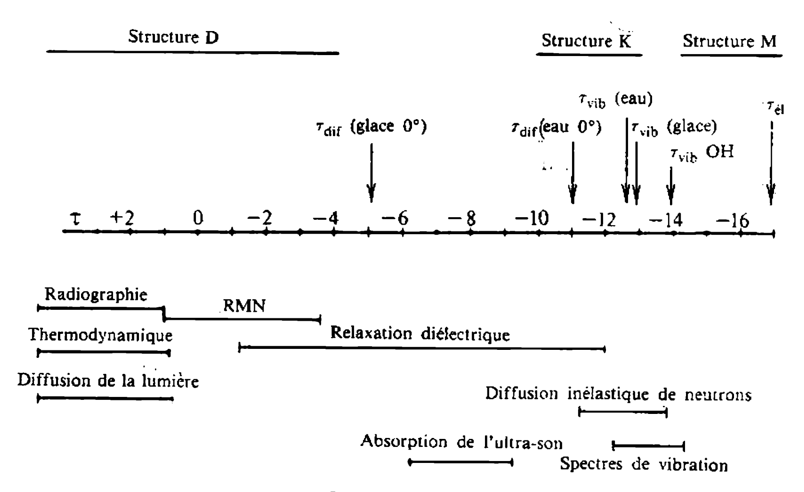


Fig. 4.11. Intervalles de temps (lg τ, τ étant exprimé en secondes) correspondant aux différentes méthodes d'étude de la structure de la glace et de l'eau

dont, avant tout, la relation entre le volume spécifique et la température. Le fait que le volume spécifique atteint son minimum à 4 °C s'explique par la compétition de deux processus. Le premier est la destruction de la structure ordonnée de la glace à petit nombre de coordination (4) qui s'accompagne de la diminution du volume. C'est la suite de la fusion. Un des modèles lie la diminution du volume au comblement des vides du réseau étalé par des molécules d'eau monomères, un autre l'explique par un ploiement des liaisons hydrogène entraînant le rapprochement des molécules voisines, donc une diminution du volume. Le second processus qui prédomine à $T > 4$ °C est la dilatation thermique du liquide due à l'augmentation des amplitudes des vibrations intermoléculaires anharmoniques.

§ 4.4. Transitions hélice-pelote

Les conformations des chaînes polypeptidiques stabilisées par les liaisons hydrogène ne sont stables que dans des conditions déterminées. Les variations de la température, du solvant, du pH du

milieu provoquent des transitions ordre-désordre, la conformation régulière de la chaîne se transformant en une pelote statistique. Ces processus sont aisés à étudier à l'aide d'homopolymères modèles: polyaminoacides synthétiques.

Beaucoup de polyaminoacides, dont, particulièrement, l'acide polyglutamique (APG) et son dérivé, le poly-γ-benzylglutamate (PBG)

$$\left[\begin{array}{l}-CO-CH-NH- \\ \quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad CH_2-CH_2-CO-O-CH_2-C_6H_5\end{array}\right]_n$$

figurent en solution sous forme d'hélices α, ce qui est corroboré par leurs propriétés hydrodynamiques et optiques. Doty a établi que les transitions hélice-pelote sont assez brusques et qu'elles rappel-

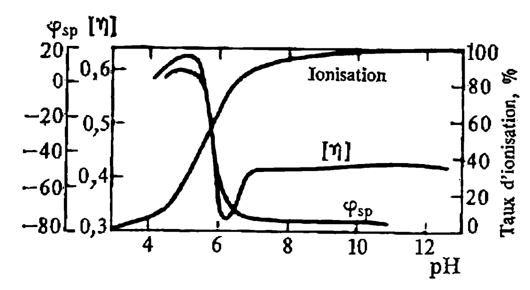


Fig. 4.12. Taux d'ionisation, [η] et φ_{sp} en fonction du pH du milieu dans le domaine de transition hélice-pelote pour l'acide polyglutamique

lent les transitions de phase: il se produit une sorte de fusion des hélices α, cristaux unidimensionnels. La figure 4.12 montre la dépendance du taux d'ionisation, de la viscosité intrinsèque [η] et de la rotation optique spécifique φ_{sp} de l'APG avec le pH du milieu. Au voisinage du pH 6 il y a une réduction brusque de [η] et de φ_{sp}, ainsi qu'augmentation du taux d'ionisation. A pH < 6 l'APG est une hélice et à pH > 6 une pelote. A la différence de l'APG, le PBG est soluble dans les solvants organiques. Mis en solution dans le dichloréthane, le chloroforme ou le formamide, le PBG forme des bâtonnets rigides: hélices α. Par contre, il a la forme de pelote dans les solvants, dont les molécules forment des liaisons hydrogène avec le PBG: acide trichloracétique, etc. Lorsque la composition du solvant (par exemple, du mélange binaire de $CHCl_3$ et $CH_2ClCOOH$) varie progressivement dans un domaine étroit (à 80 % de $CHCl_3$), l'hélice se transforme en pelote.

Le caractère brusque de cette transition et la forme en S des courbes correspondantes (telle la courbe φ_{sp} de la figure 4.12) témoignent de la nature coopérative de la transformation. La cause de cette coopérativité devient évidente, si l'on examine la structure de

l'hélice α. Les conformations des chaînons peptidiques de la chaîne sont interdépendantes, car la liaison hydrogène existant entre le groupe C=O de l'i-ème unité et le groupe N—H de la $(i-4)$-ième unité fixe les conformations des unités $(i-1)$, $(i-2)$ et $(i-3)$. Pour libérer une unité peptidique tout en assurant un gain d'entropie, il faut rompre à la fois au moins trois liaisons hydrogène, ce qui demande une dépense d'énergie. Pour qu'il y ait diminution de l'énergie libre G, il faut qu'il y ait libération de plusieurs unités, c'est-à-dire *coopérativité.*

La condition thermodynamique de la fusion d'un cristal consiste en égalité des énergies libres du cristal et du corps fondu : en l'occurrence l'hélice α et la pelote. On a donc

$$G_\alpha = H_\alpha - T_{\text{fus}} S_\alpha = H_{\text{pel}} - T_{\text{fus}} S_{\text{pel}} = G_{\text{pel}}, \tag{4.6}$$

ou

$$\Delta G = G_{\text{pel}} - G_\alpha = \Delta H - T_{\text{fus}} \Delta S = 0. \tag{4.7}$$

La variation de l'enthalpie est compensée par celle de l'entropie. Conformément à (4.7),

$$T_{\text{fus}} = \Delta H / \Delta S. \tag{4.7a}$$

La théorie statistique (que l'on exposera plus loin) montre que la proportion des chaînons hélicoïdaux dans un tel système coopératif s'exprime par la formule

$$\theta = \frac{s^n}{1+s^n}, \tag{4.8}$$

où $1 < n < N$ (N étant le nombre des motifs de l'hélice α) ;

$$s = \exp(-\Delta G/RT) \tag{4.9}$$

a le sens de la constante d'équilibre pour la formation de la liaison hydrogène dans le chaînon qui suit le chaînon déjà lié. La formule (4.8) décrit la fusion coopérative d'une hélice α, lorsque $n \gg 1$. Dans ce cas, si $s = 1$, on observe une transition brusque : $\theta \approx 0$ pour $s < 1$, $\theta = 0{,}5$ pour $s = 1$ (lorsque $\Delta G = 0$) et $\theta = 1$ pour $s > 1$. Ainsi, la formule (4.8) est en accord avec la condition thermodynamique pour la fusion (4.7), ce qui veut dire que la fusion se produit à une température déterminée.

Quelles sont donc les conditions où $n \gg 1$? La coopérativité est élevée en présence d'une valeur élevée de l'énergie libre, nécessaire pour provoquer une rupture dans la séquence des liaisons hydrogène, ou, en d'autres termes, en présence d'une petite constante d'équilibre σ pour un tel processus :

$$\sigma = \exp(-G_{\text{rupt}}/RT). \tag{4.10}$$

Selon le calcul,

$$n \approx 1/\sqrt{\sigma}. \tag{4.11}$$

La transition est d'autant plus brusque que le paramètre de coopérativité σ est plus petit. La coopérativité est maximale, lorsque $G_{\text{rupt}} \to \infty$ et $\sigma \to 0$. Alors $n \to N$. Par contre, la coopérativité est totalement absente, si $G_{\text{rupt}} \to 0$ et $\sigma \to 1$. Dans ce cas $n \to 1$ et, à la place de la formule (4.8), on a

$$\theta = \frac{s}{1+s}; \qquad (4.12)$$

θ varie progressivement, sans inflexion : la fusion ne se produit pas. On a montré sur la figure 4.13 les courbes théoriques de $\theta(s)$ pour différentes valeurs de σ.

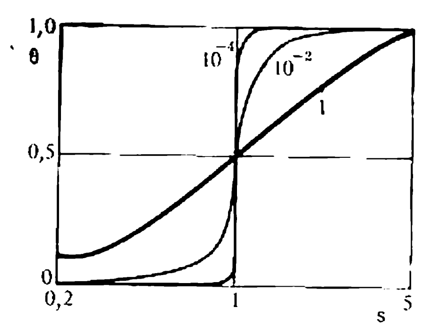


Fig. 4.13. Courbes théoriques de $\theta(s)$ pour différentes valeurs de σ

Ces relations sont déduites, en mécanique statistique, sur la base du modèle d'Ising et de la méthode matricielle (p. 77). Chaque chaînon de la chaîne polypeptidique peut se trouver soit dans un état libre (symbole $\mu_i = 0$), soit dans un état lié par des liaisons hydrogène ($\mu_i = 1$). L'énergie libre de la chaîne dépend de la combinaison des valeurs de μ_i, les conformations de quatre chaînons successifs étant interdédendantes. L'énergie libre de la chaîne s'écrit donc

$$G\{\mu_i\} \equiv G(\mu_1, \mu_2, \ldots, \mu_N) = \sum_{i=1}^{N} \tilde{G}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, \mu_{i-1}, \mu_i). \qquad (4.13)$$

Comme précédemment (p. 77), on pose que la chaîne est suffisamment longue, $N \gg 1$, et on néglige les effets aux extrémités. Il est évident que l'énergie libre nécessaire pour libérer un ou deux chaînons se trouvant entre les chaînons liés doit être très grande; comme, en réalité, il n'y a aucune libération les chaînons restent dans l'hélice. L'enthalpie est dépensée, sans qu'il y ait un, gain d'entropie. On peut poser que

$$\tilde{G}(\mu_{i-3}, 1, 0, 1) \to \infty, \quad \tilde{G}(1, 0, 0, 1) \to \infty. \qquad (4.14)$$

Ces états n'interviennent pratiquement pas dans la somme statistique

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \exp(-G\{\mu_i\}/RT). \qquad (4.15)$$

En faisant abstraction de ces états, on peut se limiter à ne considérer que deux chaînons voisins, ce qui simplifie l'expression (4.13):

$$G\{\mu_i\} = G(\mu_1, \mu_2, \ldots, \mu_N) = \sum_{i=1}^{N} \tilde{G}(\mu_{i-1}, \mu_i). \qquad (4.16)$$

On n'a affaire qu'à quatre valeurs de $\tilde{G}$: $\tilde{G}(0, 0)$, $\tilde{G}(0, 1)$, $\tilde{G}(1, 0)$, $\tilde{G}(1, 1)$. On pose que l'énergie libre du chaînon est nulle à l'état libre ($\mu_i = 0$); le chaînon a fondu. On a

$$G_{\text{libre}} = \tilde{G}(0, 0) = \tilde{G}(1, 0) = 0. \qquad (4.17)$$

Pour le chaînon à l'état lié ($\mu_i = 1$)

$$G_{\text{lié}} = \tilde{G}(1, 1) = \Delta G. \tag{4.18}$$

Enfin, pour l'état $\mu_{i-1} = 0$, $\mu_i = 1$,

$$\tilde{G}(0, 1) = G_{\text{lié}} + G_{\text{rupt}}. \tag{4.19}$$

Si l'on admet que la rotation d'un chaînon libre autour de chaque liaison donne lieu à trois rotamères, il vient

$$G_{\text{rupt}} = 4RT \ln 3 \approx 10{,}5 \text{ kJ/mol}. \tag{4.20}$$

Ces grandeurs entrent dans Z sous forme d'exponentielles: G_{libre} fournit le facteur 1, G le facteur s (formule (4.9)) et G_{rupt} le facteur σ (formule (4.10)). On a donc (cf. p. 77):

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \prod_{i=1}^{N} s^{\mu_i} \sigma^{\mu_i(1-\mu_{i-1})} = \operatorname{Tr}(P^N) = \lambda_1^N + \lambda_2^N. \tag{4.21}$$

La matrice P a la forme

$$P = \begin{array}{c|cc} \mu_{i-1} \backslash \mu_i & 0 & 1 \\ \hline 0 & 1 & \sigma s \\ 1 & 1 & s \end{array} . \tag{4.22}$$

Son équation caractéristique est

$$(1 - \lambda)(s - \lambda) = \sigma s. \tag{4.23}$$

La matrice a pour valeurs propres

$$\lambda_{1,2} = {}^1/_2 (1 + s) \pm [{}^1/_4 (1 + s)^2 + s\sigma]^{1/2}. \tag{4.24}$$

Lorsque la coopérativité est maximale, $\sigma = 0$ et $\lambda_1 = 1$, $\lambda_2 = s$. On a

$$Z = 1 + s^N \tag{4.25}$$

et

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} = \frac{s^N}{1 + s^N}. \tag{4.26}$$

En l'absence de coopérativité, $G_{\text{rupt}} = 0$ et $\sigma = 1$. Alors $\lambda_1 = 1 + s$, $\lambda_2 = 0$ et on obtient la formule (4.12). Dans les cas intermédiaires, où $0 < \sigma < 1$, on a la formule (4.8). Désignons $s^n = \tilde{s}$. Cette grandeur a le sens de la constante d'équilibre pour une réaction monomoléculaire avec participation de n chaînons, c'est-à-dire la variation effective de l'enthalpie

$$\Delta H_{\text{eff}} = n \Delta h, \tag{4.27}$$

Δh étant la variation de l'enthalpie lors de la libération d'un chaînon. Lorsque $N \gg 1$, il est possible de ne maintenir, dans (4.21), que la plus grande racine de (4.24)

$$Z \approx \lambda_1^N. \tag{4.28}$$

On a alors

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} \approx \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial \ln s} = \frac{\lambda_1 - 1}{2\lambda_1 - 1 - s}. \tag{4.29}$$

En égalant cette expression à l'expression (4.8), avec

$$s^n = \tilde{s} = \exp\left(-\frac{\Delta H_{eff} - T\Delta S_{eff}}{RT}\right), \qquad (4.30)$$

on trouve

$$\tilde{s} = (\lambda_1 - 1)/(\lambda_1 - s) \qquad (4.31)$$

et

$$\Delta H_{eff} = -\frac{d \ln \tilde{s}}{d(1/RT)} = -\frac{d \ln s}{d(1/RT)} \frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} = \Delta h \frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s}. \qquad (4.32)$$

Le calcul donne

$$\frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} = \frac{s}{(\lambda_1 - 1)(\lambda_1 - s)} \frac{2(\lambda_1 - 1)(\lambda_1 - s) + \sigma(1 - s)}{2\lambda_1 - 1 - s} \qquad (4.33)$$

et, pour la région de transition où $s \approx 1$,

$$\frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} \approx \frac{2s}{2\lambda_1 - 1 - s} \approx \frac{1}{\sqrt{\sigma}}. \qquad (4.34)$$

Par conséquent,

$$\Delta H_{eff} \approx \frac{\Delta h}{\sqrt{\sigma}}, \qquad (4.35)$$

soit

$$n \approx \frac{1}{\sqrt{\sigma}}. \qquad (4.36)$$

La grandeur ΔH_{eff} peut être trouvée d'après la pente de la courbe représentant θ en fonction de $1/RT$ dans la région de transition où $\tilde{s} \approx 1$:

$$\frac{d\theta}{d(1/RT)} = -\frac{d\theta}{d \ln \tilde{s}} \Delta H_{eff} = -\frac{\tilde{s}}{(1+\tilde{s})^2} \Delta H_{eff} \approx -{}^1/_4 \Delta H_{eff}. \qquad (4.37)$$

Les méthodes optiques permettent de déterminer $\theta(T)$ et, par là, $\Delta h/\sqrt{\sigma}$. Si l'on veut trouver séparément les grandeurs Δh et σ, on peut utiliser la dépendance de T_{fus} avec le degré de polymérisation N.

L'expérience fournit pour le PBG $\sigma = 2 \cdot 10^{-4}$ et une variation d'enthalpie lors de la libération d'un chaînon (Δh) valant près de 4 kJ/mol. Les mêmes valeurs de σ caractérisent l'APG et la poly-*L*-lysine. Mais la valeur de Δh est, dans ces deux cas, négative et petite (près de —0,29 kJ/mol). Lorsque $\Delta h > 0$, l'hélice est moins favorisée que la pelote : dans ce cas la transition hélice-pelote se produit lors de l'abaissement (et non plus avec l'accroissement) de la température.

La théorie des transitions dues au changement du solvant ou du pH du milieu, part des mêmes principes. Dans le premier cas on a à tenir compte du fait que chaque chaînon peut présenter non plus deux, mais trois états : libre, lié par une liaison hydrogène intramoléculaire et lié par une liaison hydrogène avec une molécule du solvant. Le fait que la transition dépend du pH découle de la nature polyélectrolytique des polypeptides du type APG. Chaque chaînon y est dans un de quatre états : libre ou lié, chargé ou non. Dans le cas des polyampholytes la forme de la courbe θ (pH) dépend de l'ordre, dans lequel sont disposés les chaînons cationiques et anioniques. Les calculs théoriques des transitions s'accordent bien avec l'expérience.

Les transitions forme β-pelote ont une nature quelque peu différente, car la forme β est bidimensionnelle. La théorie des transitions de ce type a été développée par Birstein.

En résumant, on constate que les interactions faibles dans les systèmes polypeptidiques simulant les protéines ont pour résultat leur comportement coopératif nettement prononcé et des transitions analogues aux transitions de phase.

§ 4.5. Globule protéique et interactions hydrophobes

A la différence des polyaminoacides monotones, une protéine contient des résidus divers, y compris ceux qui ne peuvent pas former les liaisons hydrogène (Pro). Les structures secondaires — hélices α et formes β — n'y sont représentées que partiellement, alternant avec des parties non ordonnées, dans lesquelles la chaîne protéique possède une flexibilité élevée. Cela fait que la macromolécule protéique se roule en globule, en acquérant ainsi une certaine structure spatiale dite tertiaire. C'est cette structure qui est biologiquement fonctionnelle. (Les protéines fibrillaires seront traitées au § 4.9).

Il y a aussi des cas où la protéine présente une *structure quaternaire*, lorsque sa molécule ou le système protéique supramoléculaire sont composés d'un certain nombre de globules. Exemples : la molécule d'hémoglobine comporte quatre globules de deux variétés différentes; la membrane protéique du virus provoquant la mosaïque du tabac est constituée de 2000 globules identiques. La protéine est donc un système à plusieurs niveaux.

La nature de la structure répondant à chaque niveau d'organisation est déterminée par les propriétés géométriques des structures du niveau précédent, par les forces d'interaction de leurs éléments et par l'interaction avec l'environnement. La structure « supérieure » se forme, pour ainsi dire, d'une façon automatique, par *auto-assemblage* du système. Nous considérerons au § 4.7 l'auto-assemblage d'un globule.

Connaître les modalités de l'auto-assemblage permettrait, par exemple, de prédire la structure macroscopique d'un muscle en partant des données sur la structure chimique de ses protéines. Dans un cas beaucoup plus simple on parvient à résoudre les problèmes relatifs à l'auto-assemblage en expliquant la structure des cristaux moléculaires à partir de la structure des molécules formant ces cristaux.

Nous avons déjà parlé de la distinction qui existe entre le globule polymère et la pelote statistique (p. 82). Dans une protéine, par suite de la polyfonctionnalité des résidus acides aminés, la formation du globule fait intervenir des forces diverses. La diversité des

chaînons et des interactions détermine la structure du globule: « l'apériodicité du cristal ».

Les seules interactions fortes dans le globule protéique sont les liaisons chimiques disulfure Cys—S—S—Cys. La présence de plusieurs jonctions disulfure entre les chaînons d'une même chaîne ou de quelques chaînes différentes (comme dans l'insuline) impose des restrictions quant aux conformations possibles. Mais on ne serait pas en présence d'un globule, si toutes les interactions étaient réduites aux ponts de soufre. Dans ce cas la chaîne protéique ressemblerait à la chaîne du caoutchouc vulcanisé au soufre. Un tel caoutchouc garde les propriétés d'une pelote statistique. Le globule est formé par des forces faibles: électrostatiques, de Van der Waals, liaisons hydrogène et, avant tout, *interactions hydrophobes*.

Les protéines globulaires fonctionnent en milieu aqueux; ce milieu détermine, dans une mesure importante, les niveaux supérieurs de leur structure. La physique des protéines ne peut ne pas tenir compte de l'influence de l'eau.

L'eau exerce son effet sur les liaisons hydrogène. Toutefois, le gain d'énergie libre dû à la formation de liaisons hydrogène intramoléculaires est insignifiant par rapport aux liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. Le rôle de l'eau dans la stabilisation du globule est tout autre.

L'effet hydrophobe est la seule force organisatrice fondée sur la répulsion du solvant et non pas sur l'attraction mutuelle des éléments du système. L'eau repousse les molécules non polaires, en particulier, les hydrocarbures: les huiles ne sont pas miscibles à l'eau.

Dans une solution ou un mélange en équilibre les potentiels chimiques des constituants sont égaux. Quels que soient deux environnements a et b des molécules d'un corps donné,

$$\mu_{(a)} = \mu_{(b)} \qquad (4.38)$$

ou bien

$$\mu^0_{(a)} + RT \ln x_{(a)} = \mu^0_{(b)} + RT \ln x_{(b)}, \qquad (4.39)$$

où $x_{(a)}$ et $x_{(b)}$ sont les fractions molaires du corps dans les milieux a et b en équilibre, $RT \ln x$ caractérise l'entropie du mélange, μ^0 est le potentiel chimique unitaire qui inclut l'énergie libre de tous les mouvements moléculaires du corps isolé, ainsi que l'énergie des interactions spécifiques avec les molécules environnantes. Soit un système constitué d'un liquide non polaire (comme CCl_4) et d'eau. CCl_4 n'étant pas miscible à l'eau, le système se sépare en deux couches. Introduisons-y un corps non polaire (un hydrocarbure, par exemple). Il se dissout de préférence dans le solvant non polaire. Il découle de (4.39) qu'à l'état d'équilibre on a pour une substance

non polaire

$$\mu^0_{CCl_4} - \mu^0_{H_2O} = RT \ln \frac{x_{H_2O}}{x_{CCl_4}} < 0, \qquad (4.40)$$

car $x_{CCl_4} \gg x_{H_2O}$. En effet, les différences des potentiels chimiques (4.40) des hydrocarbures sont négatives, valant quelque 3570 J/mol de groupes CH_2 et 8400 J/mol de groupes CH_3. L'effet hydrophobe est déterminé par les propriétés de l'eau : les corps hydrophobes sont inertes vis-à-vis des solvants organiques non polaires.

Les molécules qui renferment à la fois des groupes polaires et non polaires s'orientent de telle façon que les premiers se trouvent en contact avec l'eau, tandis que les seconds s'éloignent de l'environnement aqueux. Langmuir a montré que telle était la structure des couches monomoléculaires d'acides gras à la surface de l'eau : les carboxyles polaires des molécules sont immergés dans l'eau, alors que les radicaux hydrocarbonés non polaires sont orientés vers l'extérieur. La même situation détermine la structure des micelles dans les solutions colloïdales des savons dans l'eau : les groupes hydrophobes se trouvent à l'intérieur de la micelle et les groupes hydrophiles à sa surface.

La nature physique des interactions hydrophobes est spécifique. La mauvaise solubilité des hydrocarbures dans l'eau est liée non pas à l'augmentation de l'enthalpie du système, mais à la diminution de son entropie. Respectivement, l'hydrosolubilité d'un hydrocarbure décroît au lieu de croître, lorsque la température monte. L'enthalpie diminue également, mais cet effet est couvert par l'effet entropique dans le bilan global d'énergie libre. Ainsi, lorsqu'on dissout le butane C_4H_{10} dans l'eau à 298 K, l'entropie se réduit de 96,6 J/(mol·K) et l'enthalpie de 4200 J/mol. Cela conduit à un accroissement de l'énergie libre de

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -4200 + 298 \cdot 97 \approx 33\,000 \text{ J/mol}. \qquad (4.41)$$

On peut considérer la dissolution d'un hydrocarbure dans l'eau comme une inclusion de molécules non polaires dans les régions structurées (glaçoïdes) de l'eau, ainsi que dans les régions non structurées plus compactes. Dans le premier cas les molécules non polaires se situent dans les vides de la structure peu compacte, formant des *clathrates*; il y a alors plus de contacts entre les molécules considérées et l'eau et l'énergie baisse. Dans le second cas l'accroissement du nombre de contacts hydrocarbure-eau conduit à la diminution du nombre des contacts eau-eau, auxquels correspond une énergie plus basse. Cela produit un accroissement de l'enthalpie. Les hydrocarbures se dissolvent mieux dans les régions structurées, ce qui déplace l'équilibre dans le sens de la plus grande structuration (formation d'« icebergs »), d'où l'abaissement de l'entropie. Tout cela est une description qualitative. Il n'existe encore aucune théo-

rie de l'hydrophobie, mais on dispose de bons modèles théoriques.

Les résidus acides aminés d'une protéine sont polaires ou non polaires, hydrophobes ou hydrophiles. La chaîne protéique possédant une certaine flexibilité (grâce à la présence de régions désordonnées), on peut la voir se rouler en globule de manière que les résidus hydrophobes soient surtout en contact les uns avec les autres et non avec l'eau. Autrement dit, la région centrale du globule, son cœur, doit être hydrophobe (« grasse ») et sa surface extérieure hydrophile (« savonneuse »).

En effet, les protéines globulaires sont dénaturées (passent dans un état pelotonné désordonné) sous l'action des solvants organiques peu polaires qui forment les liaisons hydrogène moins bien que l'eau. L'action de ces solvants est déterminée par les contacts avec les résidus acides aminés non polaires de la protéine, ce qui perturbe les interactions hydrophobes. Cet effet dénaturant des alcools sur les protéines s'amplifie, lorsque la taille du radical aliphatique augmente. La forte dénaturation produite par l'urée s'explique également par l'affaiblissement des interactions hydrophobes.

C'est justement parce que les résidus hydrophobes sont « poussés » vers l'intérieur du globule que l'eau entourant la protéine ne subit aucune structuration supplémentaire. Certainement, les molécules H_2O entrent en interaction avec les résidus polaires sur la surface du globule, mais cette interaction est tout simplement une solvatation.

Fisher a estimé de façon approximative l'influence des résidus hydrophobes sur la forme du globule. Il a subdivisé tous les résidus acides aminés en deux groupes : polaires et hydrophiles (Arg, Asp, His, Glu, Lys, Ser, Tyr, Thr) et hydrophobes (les douze autres). En supposant que tous les résidus ont à peu près les mêmes volumes et en connaissant les pourcentages respectifs des résidus de chacun de ces deux types, on peut trouver la forme du globule. A un volume donné, c'est la sphère qui possède la moindre surface. Si le nombre de résidus hydrophiles est suffisant pour couvrir la surface d'un noyau hydrophobe sphérique, le globule a la forme sphérique. Si ce nombre est plus élevé, le globule prend la forme d'un ellipsoïde. Enfin, si les résidus hydrophiles sont trop peu nombreux pour pouvoir couvrir le noyau du globule, il reste des régions hydrophobes non protégées. Dans ce cas les globules doivent s'agglutiner pour former une structure quaternaire. Ces conceptions sont en accord approximatif avec l'expérience.

Pourtant la réalité est, bien sûr, beaucoup plus complexe. Il est impossible de remplacer 20 types de résidus, avec leurs propriétés individuelles, par deux types seulement. Il est nécessaire de tenir compte du degré d'hydrophobie d'un résidu et d'introduire sa mesure quantitative. Tanford a proposé en qualité de telle la variation d'énergie libre, ΔG, par groupe latéral (radical R) de l'amino-

acide libre lors de son transfert de l'éthanol dans l'eau. Le tableau 4.5 donne les valeurs relatives de ΔG déterminées expérimentalement par Tanford; on a posé que ΔG est nul pour le Gly, car ce résidu n'a pas de groupe latéral.

On peut considérer de façon conventionnelle que les 10 premiers résidus sont hydrophobes et que les autres sont hydrophiles. Cette

Tableau 4.5

Hydrophobies des résidus acides aminés

Résidu	ΔG, J/mol	Résidu	ΔG, J/mol	Résidu	ΔG, J/mol
1. Trp	12 600	8. Lys	6 300	15. Asp	2 270
2. Ile	12 500	9. His	5 900	16. Thr	1 850
3. Tyr	12 100	10. Met	5 500	17. Ser	170
4. Phe	11 100	11. Ala	3 070	18. Gly	0
5. Pro	10 900	12. Arg	3 070	19. Asn	—40
6. Leu	10 200	13. Cys	2 700	20. Gln	—420
7. Val	7 100	14. Glu	2 300		

classification ne coïncide pas avec la classification fondée sur la polarité (sur les moments dipolaires). L'Arg fortement polaire est aussi hydrophobe que l'Ala non polaire, grâce à la présence d'un grand résidu hydrocarboné.

Les degrés d'hydrophobie des résidus acides aminés renseignent sur la stabilisation du globule dans l'environnement aqueux. Mais il ne faut pas oublier que les résidus hydrophobes peuvent aussi être présents à la surface du globule, lorsqu'ils voisinent, dans la chaîne, avec des résidus hydrophiles. Il est donc nécessaire de considérer la structure réelle du globule, ainsi que le bilan global de toutes les interactions qui y interviennent.

Les interactions hydrophobes jouent un rôle déterminant vis-à-vis de la structure et des propriétés des membranes biologiques et des protéines qui constituent les membranes (Chapitre 10).

§ 4.6. Relation entre la structure primaire et la structure spatiale des protéines

L'édification des structures biologiques moléculaires et supramoléculaires se fait toujours en deux étapes: *biosynthèse* des molécules correspondantes, grosses et petites, et *auto-assemblage* de la structure. La biosynthèse comme l'auto-assemblage sont fondés sur la *reconnaissance moléculaire* réalisée grâce aux interactions faibles.

En ce qui concerne les protéines, le problème de l'auto-assem-

blage est cardinal. La biosynthèse, c'est-à-dire la formation de la structure primaire de la protéine, est codée génétiquement (Chapitre 8). Mais c'est la structure spatiale native de la molécule biologique, structure qui résulte de l'auto-assemblage, qui est biologiquement fonctionnelle. La sélection naturelle des protéines porte sur les structures spatiales : tertiaires et quaternaires. La biologie moléculaire et la génétique moléculaire n'auraient aucun sens, s'il n'y avait pas de correspondance univoque ou dégénérée entre la structure primaire d'une protéine, génétiquement prédéterminée, et sa structure spatiale (v. § 7.1).

L'existence de cette correspondance découle directement des expériences qui ont porté sur la *renaturation* des protéines (Anfinsen). Dans un certain nombre de cas on a pu observer la restitution de la structure native et de la fonctionnalité d'une protéine dénaturée. Au cours du « recuit » lent de la pelote protéique il y a auto-assemblage du globule organisé.

Une chaîne protéique peut présenter un nombre immense de conformations. Il est impossible de trouver la conformation unique correspondant au minimum absolu de l'énergie libre en passant en revue toutes les conformations possibles. Il paraît que la nature évite également de faire un tel choix qui exigerait trop de temps, alors que l'auto-assemblage d'un globule protéique ne dure que près d'une seconde. L'idée fondamentale des travaux actuels consacrés à la prédiction de la structure du globule en tant que cristal apériodique en partant de la structure primaire de la chaîne, consiste à considérer le globule natif comme le résultat final d'un auto-assemblage ne correspondant pas nécessairement au minimum absolu de l'énergie libre. La recherche du globule natif doit partir d'une certaine hiérarchie des structures. Une protéine peut être divisée en segments structuraux, allongés ou roulés en hélice, réunis entre eux par des courbures ou des boucles variés. Deux ou trois segments voisinant dans la chaîne forment des complexes élémentaires : des « *épingles* » constituées d'hélices α antiparallèles, des épingles β antiparallèles et des épingles β parallèles couvertes par une hélice α. Ensuite apparaît un *domaine* : structure compacte construite de plusieurs complexes élémentaires voisins et de segments structuraux. Les globules des petites protéines comportent un seul domaine, ceux des grosses protéines sont composés de plusieurs domaines. Cette hiérarchie des structures est schématisée sur la figure 4.14. Ainsi, on attribue à l'enroulement des protéines un mécanisme en blocs : les structures plus simples du niveau hiérarchique inférieur servent de blocs formant les structures supérieures (Ptitsyn).

Lim a proposé une théorie stéréochimique de la structure secondaire (α et β) des protéines globulaires. On y considère la distribution à la surface d'une partie de la structure des résidus appartenant à trois types : résidus hydrophobes, résidus à longs groupes polaires

latéraux et résidus à groupes polaires courts. Ces résidus ne peuvent s'assembler en globule d'une façon compacte et univoque qu'à condition de leur distribution strictement déterminée à la surface des hélices α ou des portions allongées. Les longs groupes latéraux hydrophiles disposés aux limites de la région hydrophobe, à l'intérieur ou à la périphérie de l'hélice, protègent le noyau hydrophobe

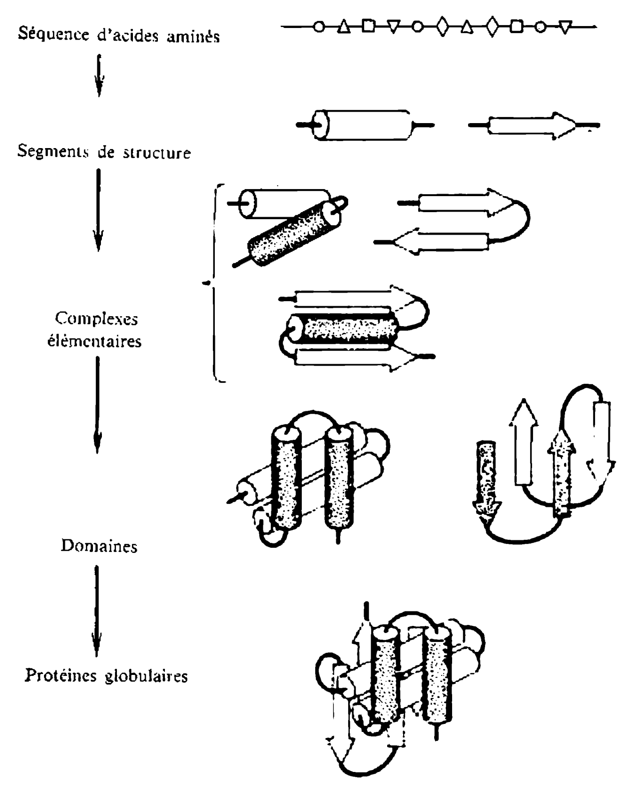


Fig. 4.14. Hiérarchie des structures d'une protéine

du globule contre l'eau. Les portions complètement hydrophobes ont toujours soit la forme α, soit la forme β; les portions complètement hydrophiles ne sont pas ordonnées. Ces considérations ont permis de prédire le taux d'hélices α de quelques protéines en assez bon accord avec l'expérience.

Mais le problème relatif à l'auto-assemblage ne se ramène pas uniquement à la géométrie: c'est un problème de la dynamique physique. Une structure secondaire peut servir de bloc dans un processus d'auto-assemblage à condition qu'elle se forme plus vite que la structure tertiaire, qu'elle existe assez longtemps et qu'elle soit

assez grosse et hydrophobe pour pouvoir participer à une interaction hydrophobe forte. Les hélices α et les formes β satisfont à ces conditions. Le calcul théorique de la structure secondaire exige la connaissance des paramètres de l'équilibre (les valeurs de s, p. 107) entre les différentes structures possibles pour tous les résidus, ainsi que l'existence d'un outillage mathématique approprié. Il est possible d'obtenir plusieurs paramètres moléculaires (mais non pas leur totalité) en examinant les transitions hélice-pelote et forme β-pelote dans les polyaminoacides modèles. Ptitsyn et Finkelstein ont obtenu les valeurs de s_α et s_β pour tous les résidus acides aminés. En règle générale, les résidus hydrophobes se caractérisent par des valeurs de s_α et s_β supérieures à 1, ce qui veut dire qu'ils stabilisent les formes α et β; par contre, presque tous les résidus hydrophiles courts et tous les résidus chargés (ainsi que le Gly et le Pro) déstabilisent les formes α et β. Les courbures et les boucles de la chaîne sont riches en ces résidus déstabilisants. Ainsi, la structure des portions α et/ou β d'une chaîne redressée est stabilisée par les interactions entre les groupes hydrophobes qui forment une surface hydrophobe continue. La distribution des groupes hydrophobes qui favorise la formation d'une portion α ou β dans la chaîne déployée, lui assure en même temps l'aptitude à s'introduire dans un globule compact. La stabilisation est donc d'abord produite par les interactions locales et ensuite par celles à grande distance.

Les structures secondaires les plus probables qui se sont formées dans la chaîne protéique déployée prédéterminent la structure secondaire du globule.

Un tel système est hautement coopératif au cours de sa formation: les calculs correspondants peuvent donc utiliser l'outillage du *modèle d'Ising* (v. pp. 77 et 108).

Le raisonnement décrit a permis de trouver la structure spatiale d'une série de protéines. La figure 4.15 présente le modèle théorique de la myoglobine. Ce modèle est en bon accord avec la structure établie par radiocristallographie.

L'auto-assemblage d'un globule se caractérise par deux voies principales: formation de la structure β plane (« feuille ») à laquelle adhère ensuite une hélice α et formation d'une épingle β qui se casse ensuite en deux. Tout l'auto-assemblage passe par trois étapes:

1. Formation de la structure secondaire fluctuante dans la chaîne protéique déployée: ce processus détermine le type de la structure secondaire de la protéine native.

2. Initiation de l'enroulement de la structure tertiaire par « l'épingle d'initiation » qui appartient à une portion α et/ou β voisine dans la chaîne. La formation de cette épingle est l'étape la moins favorisée de l'enroulement. Chaque domaine de la protéine ne possède donc qu'une seule « épingle d'initiation ».

3. Propagation de la structure tertiaire qui se fait par addition

des portions de la structure secondaire occupant les positions voisines le long de la chaîne. Le globule étant constitué de couches formées de segments structuraux qui peuvent être soit α, soit β et les jonctions désordonnées qui les unissent étant disposées aux extrémités des couches, les segments structuraux voisinant dans la chaîne sont antiparallèles. Les jonctions ne se croisent pas.

Le mécanisme à un centre de l'auto-organisation et l'absence des croisements des jonctions limitent à l'extrême le nombre des

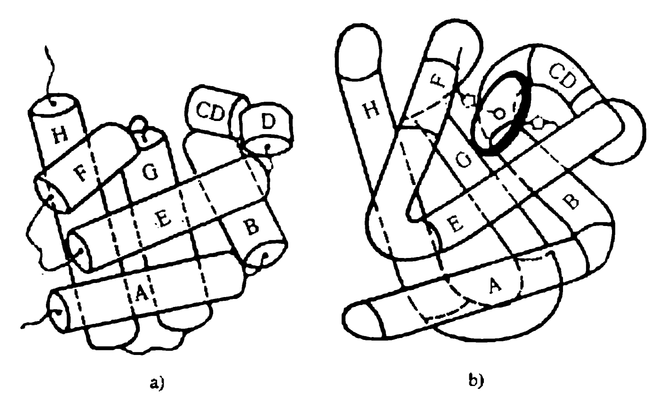


Fig. 4.15. Modèle théorique de la myoglobine (*a*) et sa structure réelle (*b*)

structures spatiales possibles. Il devient assez simple de prédire la structure des protéines ne comportant que des formes α ou β. L'initiation d'une hélice α demande une dépense d'énergie libre, alors que sa propagation n'exige aucune énergie. Voilà pourquoi la formation d'une hélice longue est plus avantageuse que celle de plusieurs hélices courtes. Plus l'hélice est longue, plus la formation d'une épingle bihélicoïdale est probable. De façon analogue, l'apparition d'une épigle β longue est plus favorisée que celle de plusieurs courtes. Le complexe peut se casser ou se plier dans les parties de la chaîne situées entre les segments structuraux natifs. Les figures 4.16 et 4.17 montrent sous une forme schématique l'initiation de la structure tertiaire pour, respectivement, les hélices α et les formes β. La théorie que l'on vient d'exposer a fourni un bon accord avec l'expérience pour plusieurs protéines, dont la ribonucléase. La théorie s'accorde avec le caractère coopératif de la dénaturation.

Malgré les bons résultats des travaux décrits, on ne peut encore considérer comme complètement résolu le problème de la structure du globule. Nous nous sommes limités à ne considérer que les interactions hydrophobes. Cependant, les interactions électrostatiques entre les groupes (« appendices ») polaires ionogènes et les molécules d'eau présentent également une grande importance. Dans une pro-

téine renfermant un cofacteur, ce dernier influe aussi sur la structure spatiale et la stabilité de la molécule. Cela concerne, notamment, le groupement prosthétique hème dans la myoglobine et autres protéines. Nous ne savons pas encore estimer théoriquement la résistance d'un globule à la dénaturation.

Comme nous l'avons déjà dit (p. 115), le problème relatif à la correspondance entre les structures primaire et spatiale est directement lié aux principes fondamentaux de la biologie théorique.

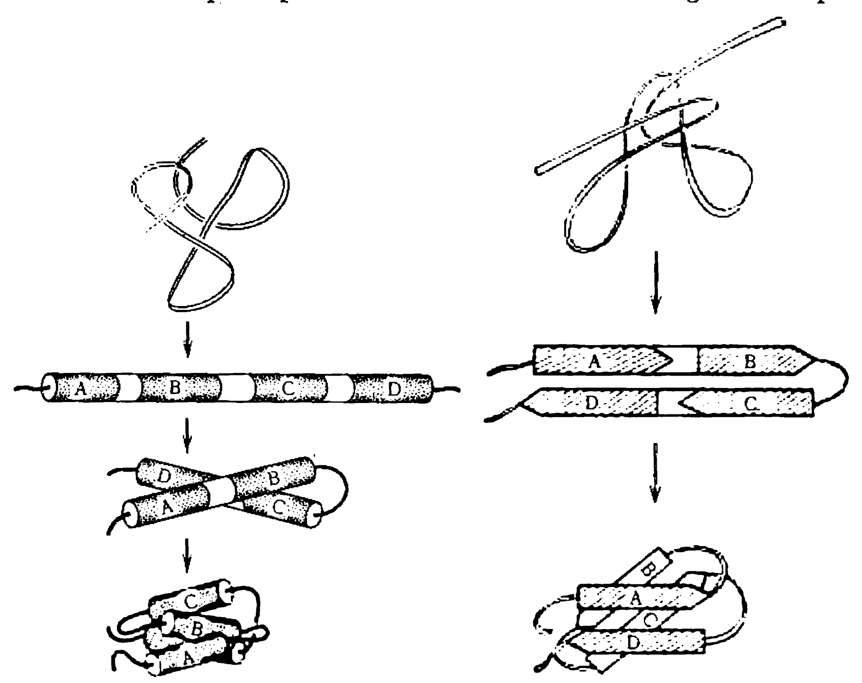


Fig. 4.16. Initiation de la structure tertiaire pour une protéine en hélice α

Fig. 4.17. Initiation de la structure tertiaire pour la forme β

Il s'agit, au fond, de deux problèmes: la correspondance entre les structures primaire et spatiale de la protéine et la relation entre la structure spatiale de la protéine et sa fonction biologique.

La correspondance des structures primaire et spatiale n'est pas univoque: des séquences différentes des résidus acides aminés peuvent répondre à une même structure spatiale de la protéine. Cela a été démontré, en particulier, pour les globines: protéines à groupement prosthétique hème qui accumule et transporte l'oxygène. Les structures primaires des globines présentent des écarts très considérables. Toutefois, leurs structures spatiales sont très proches: elles comportent des portions en hélice α pratiquement identiques, ainsi

que des « poches », où plongent les groupements prosthétiques.

On serait donc tenté de croire que la fonction biologique d'une protéine est déterminée par sa structure spatiale. Il n'est pas encore tout à fait clair, combien cette correspondance est univoque : probablement, les degrés d'univocité de telle ou telle correspondance varient suivant les protéines. En tout cas, on a des raisons pour croire que les variations de la structure primaire de certaines protéines, provoquées par les mutations, peuvent bien ne pas se répercuter sur les fonctions biologiques de ces protéines. En d'autres termes, les mutations au niveau moléculaire peuvent être neutres ou presque neutres vis-à-vis de la sélection naturelle. Cette thèse sert de base à la *théorie neutraliste de l'évolution* que Kimura a avancée en 1968. En analysant l'évolution de quelques protéines homologues, Kimura a établi que pour une protéine donnée la vitesse d'évolution, exprimée par le nombre de substitutions d'acides aminés par unité de temps géologique était à peu près constante et qu'elle coïncidait pour différentes séquences évolutives. Il a également démontré que les molécules protéiques ou leurs parties soumises à des restrictions fonctionnelles relativement petites, évoluaient plus vite que les molécules caractérisées par des contraintes plus importantes. Ainsi, les nombres de substitutions par résidu acide aminé en 10^9 ans sont les suivants : 9,0 pour les fibrinopeptides, 1,4 pour les chaînes de l'hémoglobine, 0,3 pour le cytochrome *c*, 0,006 pour l'histone H4.

Ainsi, l'évolution moléculaire a affaire à des mutations neutres de préférence, avec une dérive désordonnée des gènes. La sélection naturelle intervient au niveau du phénotype et non pas à celui des molécules de biopolymères. La théorie neutraliste a provoqué de vives critiques : on a cru qu'elle était contraire au darwinisme moderne. Mais en réalité, il n'y a aucune contradiction entre le neutralisme et le sélectionnisme. L'essence physique du neutralisme consiste tout simplement à proclamer l'ambiguïté, le caractère dégénéré de la correspondance entre la structure primaire et la structure biologiquement fonctionnelle des protéines.

§ 4.7. Structure et stabilité du globule

Les sources suivantes nous renseignent sur la structure du globule protéique :

1. La radiocristallographie de rayons X qui permet, en principe, de localiser chaque atome d'une molécule protéique (v. § 5.1).
2. L'étude de la diffusion de la lumière et des rayons X (§ 5.2) qui renseigne sur la forme du globule entier.
3. Les méthodes d'optique, de spectroscopie optique, de spectroscopie RMN et RPE (§§ 5.4 à 5.10) qui fournissent des renseignements sur les proportions des résidus ayant les formes α, β-croisée

ou désordonnée, sur les interactions des résidus, sur leur mobilité, etc.

4. L'étude de l'*échange de deutérons* (échange des atomes H d'une protéine contre les atomes D dans l'eau lourde) qui permet d'estimer la proportion des résidus joints par les liaisons hydrogène et de mettre en évidence les groupements d'atomes internes et externes dans une protéine.

5. L'étude de l'électrophorèse informant sur les charges portées par le globule.

6. L'étude de la dénaturation et de la protéolyse qui donne une information sur la stabilité du globule. Dans ce cas ce sont les méthodes de *microcalorimétrie* qui revêtent la plus grande importance.

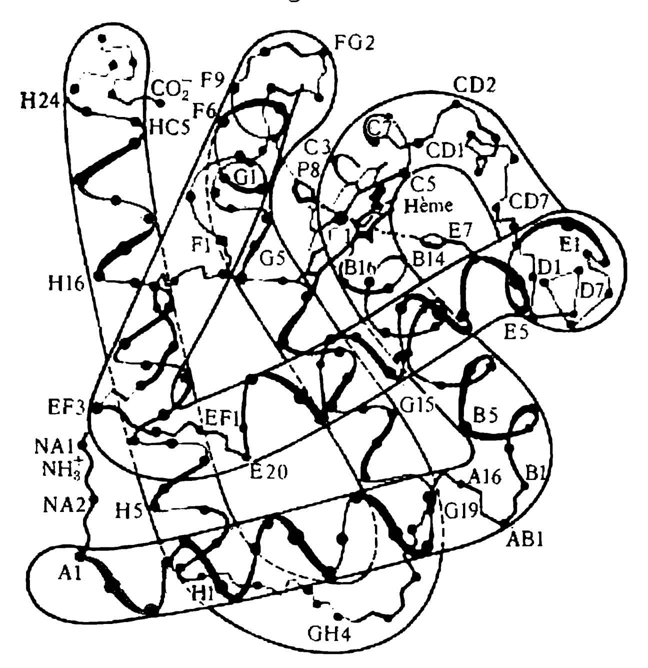


Fig. 4.18. Structure de la myoglobine

7. Les résultats des calculs et des estimations théoriques.

En matière de protéines globulaires nous allons considérer, à titre d'exemple, la myoglobine (Mb) et l'hémoglobine (Hb). La structure de ces protéines a été examinée en détail par radiocristallographie (par Kendrew pour Mb et par Perutz pour Hb). La figure 4.18 représente la structure de Mb. La molécule qui renferme l'hème en qualité de groupement prosthétique (ce groupement est montré par une flèche, cf. pp. 50, 119), se compose de huit hélices α séparées

par des portions désordonnées. Près de 75 % du nombre total (153) des résidus appartiennent à ces hélices α désignées par des lettres (A à H) en commençant par l'extrémité N de la chaîne ; à l'intérieur de chaque hélice α les résidus sont numérotés de 1 à *n*. Les portions désordonnées se trouvant entre les hélices sont désignées par AB, CD, etc., les portions terminales par —Na et HC—. A la différence de Mb, la molécule Hb possède une structure quaternaire : elle est constituée par quatre chaînes roulées en globules : deux chaînes désignées par α et deux chaînes β. La structure de chacun des globules α et β est analogue à celle de Mb.

L'analyse détaillée de la structure de Mb et de Hb montre que les « noyaux » de leurs globules sont effectivement remplis par les groupements latéraux non polaires R des résidus acides aminés qui y sont emballés de façon compacte. Le nombre des résidus internes dans chacune de quatre sous-unités de Hb est égal à 36. Plusieurs résidus Gly et Ala, faiblement hydrophobes, se situent à la surface de la molécule. Certaines grosses chaînes latérales non polaires, qui ne se trouvent pas à l'intérieur du globule, sont cachées dans un creux à proximité de la surface, ce qui réduit au minimum leurs contacts avec l'eau. Tous les groupements latéraux ionisés à pH neutre se trouvent à la surface du globule. Cela est aussi vrai pour les autres chaînes latérales polaires, à l'exception des résidus His et Thr C4, liés à l'hème, qui sont réunis par une liaison hydrogène. Sur 77 groupements polaires de Mb 5 ou 6 seulement sont disposés à l'intérieur du globule, les autres se trouvant à sa surface. L'étude des hémoglobines de diverses espèces de vertébrés et des myoglobines du cachalot et de l'homme a montré que lors des substitutions portant sur 33 résidus internes leur caractère non polaire est maintenu. Il n'y a que 10 résidus invariablement non polaires à la surface du globule. L'analyse des hélices α A, B, E, G, H témoigne d'une disposition périodique des résidus non polaires à l'intérieur de ces portions. D'un côté de l'hélice α on trouve uniquement des résidus hydrophobes, de l'autre surtout des résidus hydrophiles. Le côté hydrophobe est orienté vers le noyau du globule.

Tous ces faits confirment ce qui a été exposé aux §§ 4.5 et 4.6. Les interactions hydrophobes jouent un rôle primordial lors de l'auto-assemblage d'un globule. La structure secondaire : hélices α (ainsi que les segments β), est également déterminée, dans ce cas, par les interactions hydrophobes.

Les liaisons salines électrostatiques des protéines sont aussi stabilisées par l'environnement aqueux, car leur formation libère des molécules d'eau orientées qui entourent les groupements chargés. L'apparition d'une liaison saline s'accompagne donc d'une augmentation de l'entropie de l'eau. Ce gain d'énergie libre est plus important que le gain dû à l'attraction électrostatique des charges. Mais l'action de l'eau sur la liaison saline est autre que l'effet

hydrophobe : les liaisons salines sont consolidées et les liaisons hydrophobes s'affaiblissent, si l'on ajoute un solvant non aqueux.

La densité apparente des protéines dans l'eau est supérieure à leur densité sèche dans les solvants organiques. Cet accroissement de la densité provient de l'*électrostriction* de l'eau liée. Les molécules d'eau se fixent à la surface du globule, ainsi qu'à l'intérieur : entre les domaines de la chymotrypsine, par exemple, ou bien entre les sous-unités d'une protéine à structure quaternaire. La quantité de l'eau liée impénétrable aux électrolytes est d'environ 0,3 g par gramme de protéine, soit quelque 100 molécules H_2O par protéine de masse moléculaire 6000. Le fait que les électrolytes ne peuvent pénétrer dans l'eau liée est dû aux effets électrostatiques. Soit une charge e placée dans un solvant à permittivité élevée ε_0, disposé au-dessus de la couche d'un corps à permittivité faible ε_p. Dans cette couche on voit apparaître une charge induite

$$e' = e\,\frac{\varepsilon_0 - \varepsilon_p}{\varepsilon_0 + \varepsilon_p}. \tag{4.42}$$

Respectivement, l'énergie de la charge e à la distance r de la couche non polaire s'écrit

$$E = \frac{ee'}{2\varepsilon_0 r} = \frac{\varepsilon_0 - \varepsilon_p}{\varepsilon_0 + \varepsilon_p}\,\frac{e^2}{2\varepsilon_0 r}. \tag{4.43}$$

Lorsque $\varepsilon_0 = 81$ et $\varepsilon_p \approx 5$, on a $E = kT$ pour $r = 0{,}3$ nm, ce qui veut dire que les ions ne peuvent pénétrer dans une couche d'eau ayant approximativement l'épaisseur d'une molécule et recouvrant la protéine.

Il est naturel de se poser la question sur le rapport qui peut exister entre la théorie du globule polymère (§ 3.5) et la structure (et les propriétés) d'un globule protéique réel. La théorie de Lifchitz est relative aux homopolymères. Elle montre la possibilité des transitions de phase de la pelote statistique en globule et inversement et elle indique aussi que le globule est un système condensé et cristallin. Ces deux thèses répondent aux propriétés des protéines. Toutefois, ce qui importe pour la structure spatiale d'une protéine, c'est son caractère hétéropolymère, la diversité des résidus et de leurs interactions. Les chaînes protéiques sont courtes en comparaison des chaînes traitées dans cette théorie. Le globule protéique n'a donc aucune « bordure » fluctuante et la transition de phase globule protéique-pelote est une transition de premier ordre.

Cette transition a lieu lors de la dénaturation de la protéine. La dénaturation consiste à rompre les niveaux supérieurs de la structure tout en préservant la structure primaire de la chaîne. Elle est provoquée par le chauffage, l'action d'acides et d'alcalis ou de substances telles que l'urée, par un effet mécanique (*ultrason*), etc.

On a montré sur la figure 4.19 les résultats d'une étude de la dénaturation thermique du chymotrypsinogène. La transition se traduit par une variation du coefficient d'extinction à 293 nm (v. p. 153). Le processus est réversible, les courbes sont celles d'équilibre. Cette transition est typique pour les protéines globulaires. L'intervalle de températures de la transition est de l'ordre de 10 °C. La transition se produit en une seule étape, comme une transition de phase de premier ordre.

L'étude calorimétrique renseigne sur la thermodynamique de la dénaturation. Selon Privalov, l'absorption de la chaleur lors du

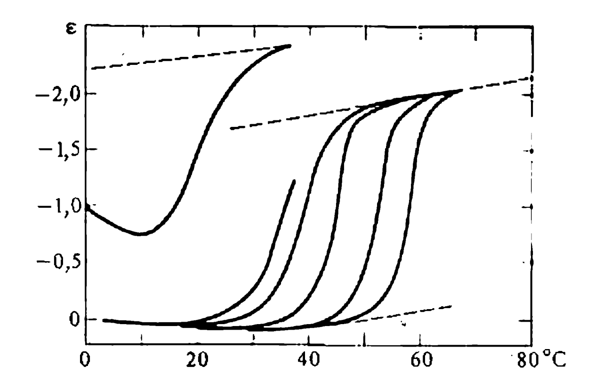


Fig. 4.19. Coefficient d'extinction à 293 nm d'une solution de chymotrypsinogène en fonction de la température. Les courbes ont été tracées pour quelques valeurs différentes du pH. La courbe interrompue inférieure correspond à la forme native, la courbe supérieure à la forme dénaturée

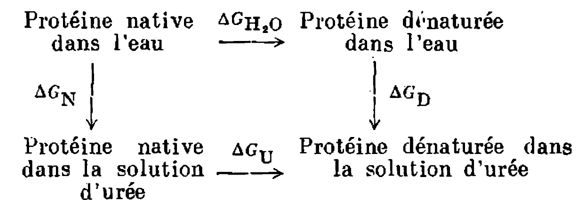
chauffage de certaines protéines globulaires (albumines, myoglobine, chymotrypsinogène, ribonucléase) se déroule en deux étapes. La première, celle de prédénaturation, est caractérisée par une certaine augmentation de la capacité calorifique sans accroissement brusque de l'enthalpie; la seconde est la dénaturation proprement dite, la transition de phase. L'enthalpie et la température de la dénaturation dépendent beaucoup du pH du milieu, ce qui témoigne du rôle important des effets électrostatiques. Ainsi, à pH 12,2, la myoglobine a $T_{fus} = 50$ °C et $\Delta H = 300$ kJ/mol de protéine; à pH 10,7, $T_{fus} = 78$ °C et $\Delta H = 710$ kJ/mol de protéine. Lors de la dénaturation d'une protéine globulaire la variation de l'énergie libre ΔG a une valeur comprise entre 4,2 et 6,3 kJ/mol, ΔH vaut des dizaines et des centaines de kJ/mol, ΔS est égal à 700-800 J/(mol·K).

Nous allons considérer la méthode de détermination de ΔG en partant de la dénaturation dans une solution d'urée (Tanford).

Pour ce processus on a

$$-\Delta G_U = RT \ln K_U = RT \ln \frac{[D]}{[N]}, \tag{4.44}$$

où [D] et [N] sont respectivement les concentrations des protéines dénaturée et native. Il nous faut connaître les valeurs de ΔG_{H_2O} pour la solution aqueuse. On se servira du cycle suivant :



Alors

$$\delta\Delta G = \Delta G_U - \Delta G_{H_2O} = \Delta G_D - \Delta G_N. \tag{4.45}$$

La quantité $\delta\Delta G$ peut être représentée sous la forme

$$\delta\Delta G = \sum y_i n_i \Delta G_i, \tag{4.46}$$

où n_i est le nombre de groupes du type i dans la protéine, ΔG_i leur contribution à l'énergie libre de la transition, y_i un paramètre numérique qui dépend de l'accessibilité au solvant des groupes de ce type dans la conformation native. On arrive à obtenir un bon accord avec l'expérience en posant $y_i = 0,25$ pour les groupements polaires, $y_i = 0,75$ pour les groupements hydrophobes et $y_i = 0,50$ pour les liaisons peptidiques. Les valeurs de ΔG_i sont tirées des données relatives à la solubilité des acides aminés dans l'eau et dans la solution d'urée d'une concentration donnée.

Soit c_U^* la concentration de l'urée, pour laquelle [D] = [N] : c'est le point de demi-dénaturation. Alors, selon (4.44), $\Delta G_U = 0$ et

$$\Delta G_{H_2O} = -(\delta\Delta G)_{c_U^*} = -\sum_i y_i n_i (\Delta G_i)_{c_U^*}. \tag{4.47}$$

C'est un procédé commode pour déterminer la stabilité conformationnelle d'une protéine.

L'énergie libre de dénaturation doit être la somme de nombreuses contributions. On peut écrire

$$\Delta G = \Delta G_\alpha + \Delta G_H + \Delta G_{np} + \Delta G_e + \Delta G_{gonf} + \Delta G_r + \ldots, \tag{4.48}$$

où ΔG_α est déterminé par les transitions hélice α-pelote, ΔG_H par les ruptures des liaisons hydrogène entre les chaînes protéiques des macromolécules voisines, ΔG_{np} (np veut dire non polaire) par la variation des interactions hydrophobes, ΔG_e par la variation des interactions électrostatiques, ΔG_{gonf} par le gonflement de la pelote

formée, ΔG_r par la rupture des liaisons faibles entre les portions de la structure secondaire. On a

$$\Delta G_\alpha = (N - 4)\,\Delta H_\alpha - (N - 1)\,T\Delta S_\alpha, \qquad (4.49)$$

où N est le nombre des chaînons dans l'hélice α, ΔH_α et ΔS_α sont les variations d'enthalpie et d'entropie par chaînon d'une chaîne à $N \gg 1$ lors de la transition hélice-pelote. Une chaîne comportant N chaînons possède, dans la forme en hélice α, $N - 4$ liaisons hydrogène qui limitent la mobilité de $N - 1$ chaînons. Selon une estimation disponible, $\Delta H_\alpha = 6{,}3$ kJ/mol, $\Delta S_\alpha = 17{,}6$ J/(mol·K). Si l'on ne tient compte que de ΔG_α et ΔG_{gonf}, la température de la transition est tirée de la condition $\Delta G = \Delta G_\alpha + \Delta G_{\text{gonf}} = 0$, soit

$$T_{\text{fus}} = \frac{(N-4)\,\Delta H_\alpha + \Delta H_{\text{gonf}}}{(N-1)\,\Delta S_\alpha + \Delta S_{\text{gonf}}}, \qquad (4.50)$$

la quantité ΔH_{gonf} étant négligeable; ΔS_{gonf} est proportionnel à N: plus la chaîne est longue, plus il y a de liaisons transversales. L'estimation de ΔG_{np} donne 2,1 kJ/mol, les valeurs de ΔG_{H} et de ΔG_e sont du même ordre. Une définition théorique rigoureuse de toutes les contributions à ΔG est difficile à fournir.

La part de la protéine dénaturée peut être représentée par la formule

$$x = \frac{\exp(-\Delta G/RT)}{1 + \exp(-\Delta G/RT)}. \qquad (4.51)$$

Au point de transition, $\Delta G = 0$ et $x = 0{,}5$. L'acuité de la transition est caractérisée par la dérivée

$$\left(\frac{dx}{dT}\right)_{T_{\text{fus}}} = \frac{\Delta H}{4RT_{\text{fus}}^2}. \qquad (4.52)$$

L'étude expérimentale et théorique de la dénaturation des protéines renseigne, d'une part, sur le degré de stabilité de la protéine native (variation d'énergie libre) et, d'autre part, sur la coopérativité des interactions qui détermine l'acuité de la transition. Il va de soi que l'étude de la dénaturation ne dit rien sur l'organisation du globule protéique, car la dénaturation implique la destruction de ce cristal apériodique. Néanmoins, cette destruction fournit une information « moyenne » sur la stabilité des liaisons internes, sur les *interactions électrono-conformationnelles* (v. § 6.5).

Nassonov et Aleksandrov (1940) ont supposé que le fonctionnement des protéines était lié à leur « dénaturation partielle ». Plus tard Aleksandrov a trouvé des corrélations entre la température d'un organisme et la température de dénaturation de ses protéines. Cette corrélation est illustrée par le tableau 4.6 qui confronte les caractéristiques correspondantes des grenouilles appartenant à deux espèces voisines: la grenouille rousse (*Rana temporaria L.*) qui habite

plus au nord et la grenouille lacustre (*Rana ridibunda Pall.*) habitant plus au sud.

La température de dénaturation des protéines est de loin supérieure à la température du corps. Aleksandrov donne à cette corrélation l'explication suivante. Le fonctionnement d'une protéine exige un certain niveau de mobilité, de flexibilité interne de la

Tableau 4.6

Thermophilie des grenouilles (d'après Aleksandrov)

Caractéristique	*Rana temporaria*	*Rana ridibunda*
Limites de la zone d'habitation :		
nord	70 ° L. N.	60 ° L. N.
sud	43 ° L. N.	40 ° L. N.
en altitude	3048 m	2438 m
Température du corps dans la nature (°C)	6,0 à 26	11,0 à 29,5
Température ambiante préférée (°C)	13 à 26	18 à 28
Réflexes absents dès (°C)	30 à 32	35 à 36
Spermatozoïdes immobilisés dès (°C)	39,2	41,4
L'ovule perd l'aptitude à se développer dès (°C)	36,6	38,5
Inactivité ATP-asique totale des homogénats musculaires dès (°C)	40 à 42	46 à 50
Dénaturation de 50% de l'hémoglobine à (°C)	60	64
Contraction à 50% du collagène des tendons à (°C)	51,5	57,6
Dénaturation de 50% du tropocollagène de la peau à (°C)	25,5	32,0
Début de coagulation de l'albumine sérique à (°C)	68,0	75,0

molécule protéique globulaire ou fibrillaire (pour ce qui concerne l'intérêt de cette mobilité pour la catalyse enzymatique, v. Chapitre 6). Les interactions intramoléculaires responsables de la rigidité de la molécule seront d'autant plus faibles et la température de dénaturation d'autant plus basse que la température du corps est moins élevée. Il est possible qu'un rôle particulièrement important revient ici aux interactions entre domaines du globule. Les interactions électrostatiques — ponts de sel — y jouent aussi, probablement, un rôle considérable. Les propriétés d'une petite protéine, la *ferredoxine*, qui comporte près de 60 résidus acides aminés et deux clusters Fe_4S_4, sont significatives à ce point de vue. La ferredoxine des bactéries *Clostridium pasterianum* est complètement inactivée après deux heures de chauffage à 70 °C, alors que la ferredoxine de *C. acidiurici* garde dans ce cas 20 % de son activité, celle de *C. tartarivorum* 50 % et celle de *C. thermosaccharolyticum* 90 %. On a pu établir que la thermostabilité élevée de la protéine prove-

nant des organismes thermophiles est due à la présence de ponts salins supplémentaires. Un tel pont fait croître l'énergie libre de stabilisation jusqu'à 12 à 16 kJ/mol.

La dénaturation est en bonne corrélation avec la protéolyse: décomposition hydrolytique des protéines à l'aide d'enzymes protéolytiques (Linderström-Lang). Plus une protéine est thermostable, mieux elle résiste à la protéolyse. Ce fait est important pour les grenouilles: la protéolyse du collagène par la collagénase se produit, lorsque le têtard perd sa queue.

La dénaturation des protéines par les acides ou les alcalis est directement liée aux interactions électrostatiques. L'énergie libre d'un polyélectrolyte roulé en globule est proportionnelle au carré de sa charge superficielle: la stabilité des protéines décroît donc de part et d'autre du point isoélectrique (p. 29). En outre, le titrage à l'acide ou à l'alcali peut ioniser les groupes internes, ce qui renforce l'attraction de la couche d'hydrate en déplaçant l'équilibre vers la pelote.

§ 4.8. Anticorps et antigènes

L'*immunité cellulaire* et l'*immunité humorale* (v. § 17.9) protègent l'organisme contre les biopolymères étrangers et, par là, contre les germes infectieux. Dans le second cas l'immunité est due à l'interaction des *anticorps* (AC), protéines spéciales produites par les cellules lymphatiques, avec les biopolymères étrangers que l'on appelle alors *antigènes* (AG). La réaction d'immunité (apparition d'anticorps dans l'organisme) résulte de la reconnaissance des antigènes par certaines populations de lymphocytes. Ce processus se développe au niveau de l'organisme avec participation de divers systèmes cellulaires de reconnaissance dotés d'une *mémoire*: l'introduction d'un antigène qui avait déjà été introduit provoque une production accrue d'anticorps.

Les AC sont des protéines de la catégorie des immunoglobulines. L'homme possède cinq classes principales d'immunoglobulines désignées par Ig G, Ig M, Ig A, Ig D, Ig E. Ce sont les Ig G qui fonctionnent comme AC. Leur masse moléculaire est d'environ 150 000, la constante de sédimentation valant 7S. Les immunoglobulines Ig M sont les pentamères des Ig G. La structure de plusieurs Ig G est connue. La figure 4.20 schématise l'Ig G du lapin. Sa molécule se compose de deux chaînes lourdes de masse moléculaire 53 500 $\pm$ $\pm$ 4000 (près de 450 résidus) (désignées par γ) et de deux chaînes légères de masse moléculaire 23 800 $\pm$ 1000 (quelque 220 résidus), désignées par $\varkappa$ ou λ. Les chaînes sont liées entre elles par des ponts disulfure.

Les anticorps correspondant à des antigènes très divers ont une structure analogue, malgré les différences au niveau de la structure primaire, localisées dans la région V (variable) de la molécule qui

se trouve à proximité des extrémités N des chaînes lourdes et légères. Probablement, les AC ont une structure en domaines comportant plusieurs globules liés les uns aux autres (fig. 4.21). Les régions V sont responsables de l'interaction AC-AG, car la spécificité des AC

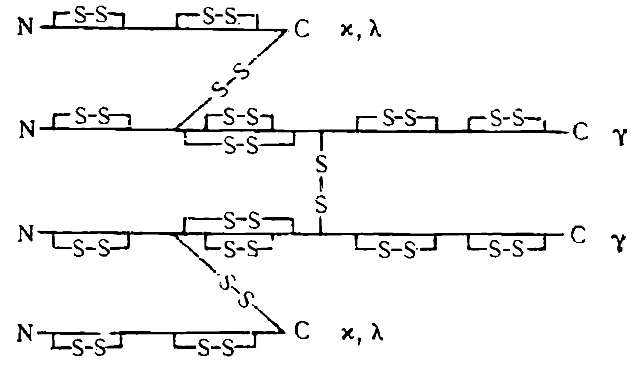


Fig. 4.20. **Structure** de l'anticorps Ig G

découle des particularités de la structure primaire. Le centre actif d'un AC renferme une région V. Toute molécule d'AC possède deux centres actifs.

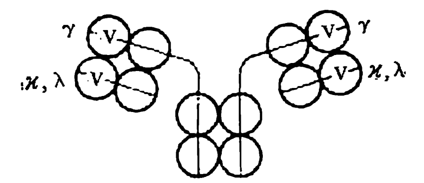


Fig. 4.21. **Structure en domaines de l'Ig G, selon** Edelman

Les antigènes sont avant tout des protéines et des polysaccharides. Landsteiner (1919) a mis au point une méthode de préparation d'AG artificiels qui consiste à combiner des corps aromatiques diazotés au Tyr d'une protéine:

$$\text{HO}-\underset{\text{Tyr}}{\text{C}_6\text{H}_4}-\text{CH}_2-\underset{\substack{|\\ \text{C}=\text{O}\\ |}}{\overset{\substack{|\\ \text{NH}\\ |}}{\text{CH}}} + \text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}^+\equiv\text{NX}^- \longrightarrow$$

$$\longrightarrow \quad \text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_3(\text{HO})-\text{CH}_2-\underset{\substack{|\\ \text{C}=\text{O}\\ /}}{\overset{\substack{\diagdown\\ \text{NH}\\ |}}{\text{CH}}}$$

De cette façon on arrive à introduire dans la protéine tout radical R. Une R-phénylazoprotéine est utilisable en qualité d'AG : elle stimule la production des AC correspondants.

On sait que le facteur qui détermine la spécificité de l'antigène est justement le radical R, alors que la protéine joue un rôle de second plan : l'AC produit en réponse à l'introduction de R-P (P est la protéine), réagira avec R-P′ (P′ est une autre protéine), mais non avec R′-P. L'antigène R-P forme avec l'AC correspondant un précipité mal soluble. Si l'on ajoute, au système R-AG, AC, de petites molécules renfermant le même groupe R, la réaction AG-AC est freinée et cesse, lorsque la concentration augmente encore plus. Les petites molécules ne forment pas d'anticorps dans l'organisme et ne peuvent, non plus, être antigènes. Mais elles entrent en réaction avec les AC formés précédemment et donnent des composés solubles. C'est ce qu'on appelle effet hapténique, les petites molécules en question étant dites *haptènes*. Les haptènes rivalisent avec les AG en agissant sur les mêmes régions actives des AC. La réaction d'un anticorps avec un haptène ou un antigène s'effectue au moyen d'interactions faibles, tout en étant régie par la loi de l'action des masses. Les AG naturels sont polyvalents : ils renferment plusieurs groupements déterminants (hapténiques). C'est la structure spatiale d'un groupement déterminant qui intéresse les processus d'immunité.

La présence de groupes réactifs (centres actifs) dans les AC a été démontrée dans les expériences élégantes de Pressman et Sternberg (1951). Un lapin était immunisé à l'aide d'AG artificiels qui contenaient en guise de groupes déterminants le résidu d'acide *p*-azobenzoïque

$$HOOC-C_6H_4-N{=}N-\text{Protéine}$$

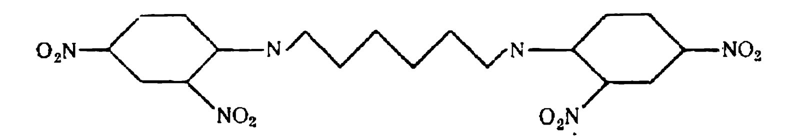
ou celui d'acide *p*-azophénylarsinique

$$H_2O_3As-C_6H_4-N{=}N-\text{Protéine}$$

Les AC obtenus étaient iodés, ce qui inhibait complètement leur activité immunologique. Toutefois, lorsque l'iodation était effectuée en présence d'haptènes, l'activité se trouvait maintenue. Il est donc évident que l'introduction d'iode dans la région active de l'AC détruit son activité, alors que l'haptène protège cette région contre l'iode. Cela est représenté sur la figure 4.22. Il existe une analogie de structure entre la région active de l'AC et l'haptène ou le groupe déterminant de l'AG.

On a étudié par microscopie électronique la structure du complexe AC-DNP, DNP étant l'haptène dinitrophénylé bifonctionnel

correspondant



La figure 4.23 présente une microphotographie électronique du complexe AC-DNP et la figure 4.24 le schéma de son interprétation. Les AC bivalents réagissent avec les molécules de DNP, également bivalents, en formant des cycles ternaires. Les saillies au niveau

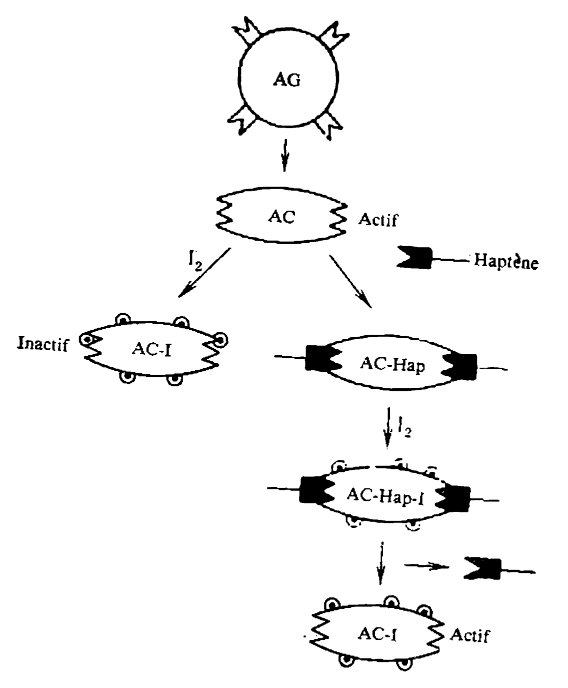


Fig. 4.22. Schéma de l'iodation des anticorps

des sommets des triangles sont les parties des AC qui ne renferment pas de régions variables. Lors d'un prétraitement des AC à la pepsine ces parties sont détachées (fig. 4.23, *b*).

Les constantes d'équilibre de la réaction AC + AG ou AC + + Hap (haptène) sont déterminées à l'aide d'expériences *in vitro*:

$$K = \frac{[\mathrm{AC-Hap}]}{[\mathrm{AC}][\mathrm{Hap}]} = \exp\left(-\frac{\Delta H - T\Delta S}{RT}\right). \quad (4.53)$$

La relation entre K et $1/T$ permet de trouver ΔH et ΔS. Les variations d'enthalpie sont de l'ordre d'une dizaine de kJ/mol (interactions faibles), les variations ΔS sont, le plus souvent, positives, ce qui peut être expliqué par la libération des molécules d'eau hydratantes lors de la formation de complexes.

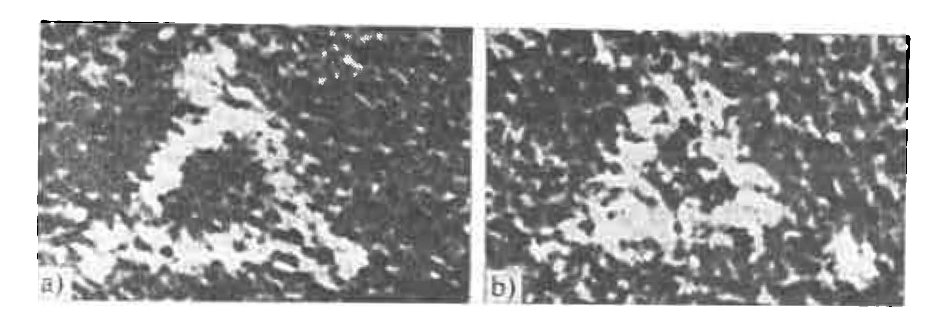


Fig. 4.23. Microphotographies électroniques du complexe AG-AC (*a*) et du même complexe traité à la pepsine (*b*)

L'étude de la relation entre les constantes d'équilibre et la structure des haptènes ou des groupes déterminants correspondants des AG a été effectuée par Pauling et Pressman (1944-1957). Ils ont, notamment, obtenu les AC correspondant aux ions *ortho*-, *méta*- et *para*-azobenzène-arsonate. Les anticorps qui correspondent à chacun de ces groupes se comportent comme si leur structure était complémentaire par rapport à la surface de Van der Waals du groupe déterminant. La dépendance de l'interaction avec la structure est très nette. Ainsi, l'AC qui correspond à l'*ortho*-azobenzène-arsonate fixe parfaitement autres dérivées *ortho* (où AsO_3H^- est remplacé par les radicaux OH, NO_2, Cl, CH_3, NH_2), moins bien les dérivés substituées en *méta* et encore moins bien les dérivés substitués en *para*. La disposition relative des différentes parties du groupe hapténique est bien importante. Pour l'AC correspondant à *para*—N=N—C_6H_4—AsO_3H^-, les constantes relatives de fixation des haptènes $OAsO_3H^-$, $H_3CAsO_3H^-$, $H_5C_6AsO_3H^-$ et $H_5C_6CH_2AsO_3H^-$ valent respectivement 0, 0, 1 et 0. Lorsque le noyau benzénique (nécessaire

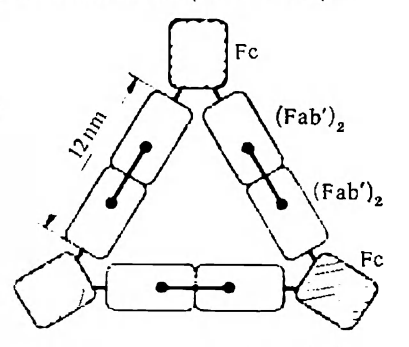


Fig. 4.24. Schéma du complexe AG-AC. L'« haltère » représente la molécule de DNP

pour la fixation) est séparé de l'arsonate par un groupe CH_2, la fixation n'a pas lieu. La fixation dépend dans une large mesure de la nature du groupement chargé. Ainsi, les mêmes AC fixent avec une force égale $C_6H_5AsO_3H^-$ et $C_6H_5PO_3H^-$, mais ne fixent pas $C_6H_5SO_3^-$, $C_6H_5CO_2^-$ et $C_6H_5SbO_5H_4^-$. La taille de l'ion est aussi importante.

Ces données, ainsi que certaines autres, témoignent de la complémentarité, de la correspondance de structure qui existe entre la région active de l'AC et le groupe déterminant (ou hapténique) de l'AG. L'étude de la réaction des anticorps actifs vis-à-vis de la poly-*L*-alanine avec les oligopeptides de l'alanine a permis d'estimer les dimensions de la région active des AC: $2{,}5 \times 1{,}1 \times 0{,}2$ nm³. Les anticorps sont des protéines globulaires. Dénaturés, ils perdent leur aptitude à la fixation spécifique des AG ou des haptènes. Parfois on arrive à effectuer une renaturation d'un anticorps en restituant son activité. La présence d'un haptène favorise la renaturation.

Les molécules d'AC possèdent une certaine flexibilité: elles sont susceptibles de transformations conformationnelles. La luminescence par polarisation des complexes Ig G-colorant luminescent a aidé à déterminer les temps de relaxation de rotation τ qui se sont avérés être de l'ordre de 50 ns (v. § 5.5). Ces valeurs correspondent au mouvement brownien de rotation non pas de la molécule protéique entière, mais de ses parties relativement petites: c'est donc un signe de la flexibilité de la molécule protéique. Il paraît que les domaines sont mobiles. L'interaction haptène-AC provoque une augmentation significative de τ, ce qui témoigne d'une variation de la conformation de l'AC. Il a été établi que la conformation des AG variait également lors de la formation du complexe AC-AG. Les résultats des mesures optiques sont confirmés par l'étude des spectres de résonance paramagnétique électronique des anticorps à marqueurs paramagnétiques.

§ 4.9. Protéines fibrillaires

Pour conclure ce chapitre, penchons-nous sur la structure et les propriétés des protéines fibrillaires: structurales et contractiles. Les premières jouent un rôle de soutien et de protection en entrant dans la composition des tendons, cartilages, os, ligaments, etc. (*collagènes*), ainsi que de la peau, du poil, des cornes, etc. (*kératines*). Les secondes sont les substances actives des systèmes assurant la contraction, dont les muscles (*myosine*).

A la différence de la plupart des protéines globulaires, les protéines fibrillaires ne fonctionnent pas en solution, mais forment des systèmes tissulaires supramoléculaires.

Lorsqu'on traite un tissu conjonctif par des solutions froides de sels neutres, dont la force ionique a une valeur physiologique, une partie du collagène se trouve dissoute. Le reste, dit *procollagène*,

se dissout dans l'acide citrique ou dans l'acide acétique à pH 3,8.

Les fibres (les fibrilles) collagènes se forment par agrégation des chaînes de procollagène. Ces fibrilles jouent le rôle de centres de cristallisation lors de l'ostéogénèse (croissance des os).

Les fibres collagènes sont insolubles dans l'eau, mais un chauffage prolongé dans l'eau détruit les chaînes protéiques longues, transformant le collagène en gélatine soluble.

La composition en aminoacides du collagène est spécifique: le Gly constitue 33 % de tous les résidus, le Pro 12 % et l'*hydroxyprolyle* (Hyp), résidu non canonique, 10 %. Ce résidu, ainsi que l'hydroxylysile Hyl, dont les concentrations sont comprises entre 0,3 et 1,2 %, se rencontrent presque exclusivement dans les collagènes. Le collagène renferme également jusqu'à 10 % d'Ala et des proportions beaucoup moins importantes d'autres aminoacides, les teneurs en Tyr, His, Cys, Met, Val et Phé étant particulièrement petites: moins de 1 pour cent. Ainsi, jusqu'à $^2/_3$ des résidus sont représentés par Gly, Pro, Hyp et Ala. La séquence des résidus dans la chaîne collagène peut être représentée sous la forme $(\text{Gly-X-X})_n$, où X est n'importe quel résidu. Les séquences les plus fréquentes sont les suivantes: Gly-Pro-Hyp, Gly-Pro-Ala, Gly-Ala-Hyp.

La structure du collagène a été établie par radiocristallographie dans les travaux de Ramachandran, Rich et Crick. La molécule de collagène en solution, dite *tropocollagène*, a la forme d'une triple hélice de masse moléculaire approximative 360 000, chacune des trois chaînes contenant près de 1000 résidus acides aminés. La molécule est longue de 290 nm, son diamètre est égale à 1,5 nm.

Le calcul théorique de la structure du tropocollagène part de la minimisation de l'énergie conformationnelle et tient compte du rôle stabilisant des molécules d'eau (Toumanian). Les résultats de ce calcul présentent un bon accord avec l'expérience. Le tropocollagène subit une transformation thermique — dénaturation — en solution. Suivant le vertébré concerné, la température de dénaturation T_d peut varier entre 20 et 40 °C, l'enthalpie de dénaturation entre 3150 et 6300 J/mol, l'entropie entre 10,9 et 21 J/(mol·K) (données calorimétriques). Les quantités T_d, ΔH et ΔS augmentent parallèlement à l'accroissement de la teneur en résidus acides iminés Pro et Hyp qui ne forment pas de liaisons hydrogène intramoléculaires C=O....N—H. Il paraît que le tropocollagène est en effet stabilisé par les molécules d'eau voisines formant les liaisons hydrogène avec les azotes des groupes imine: N....H—O. Une fois l'eau éliminée, la structure du collagène se trouve détruite; elle est restituée, si l'on ajoute de nouveau de l'eau.

Le problème de la relation liant les propriétés du collagène à sa structure n'est pas encore tout à fait élucidé. Il est nécessaire de poursuivre les recherches dans ce domaine: le collagène est une des plus importantes protéines; sa composition et sa structure sim-

ples en font un modèle précieux pour l'étude des protéines en général.

Considérons maintenant la *kératine*. Les propriétés macroscopiques des cheveux, du poil, etc., témoignent de sa bonne stabilité et de son insolubilité. Ces particularités sont dues, avant tout, au nombre élevé de liaisons disulfure transversales entre les chaînes polypeptidiques. La kératine des cheveux de l'homme et celle du poil d'animaux renferment 11 ou 12 % de Cys, soit 3 % de soufre.

La longueur des fibres de kératine dépend essentiellement de leur teneur en eau (c'est le principe de fonctionnement de l'hygromètre à cheveu). Ces fibres sont élastiques et extensibles. C'est Astbury qui a effectué les premières tentatives de radiocristallographie des protéines et c'est sur la structure de la kératine de la laine que ses travaux ont porté (1943). La kératine d'une fibre non étirée se caractérise par une périodicité égale à 0,51 nm (α-kératine); l'étirement la transforme en β-kératine avec une période de 0,33 nm le long de l'axe de la fibre et les périodes transversales valant 0,47 et 0,97 nm. Selon Astbury, l'α-kératine se caractériserait par des courbures régulières de la chaîne se redressant lors de l'étirement. Plus tard on a démontré que l'α-kératine est constituée, dans une mesure notable, d'hélices α et que la β-kératine a la forme β canonique.

La kératine est une protéine complexe. En rompant les liaisons disulfure par oxydation ou par réduction, on obtient une substance soluble, dont on peut extraire deux fractions: une qui est pauvre en soufre et l'autre qui est riche en soufre. La première est constituée de molécules fibrillaires, la seconde de molécules globulaires. Les molécules globulaires serviraient de ponts dans les fibres kératiniques. L'unité structurale de la fibre est une microfibrille cylindrique d'un diamètre de près de 7,5 nm, constituée de protéines à faible teneur en soufre. Un modèle hypothétique de la fibre d'α-kératine est représenté sur la figure 4.25. Les portions régulières sont des hélices α roulées par deux. La protéine est hétérogène; ses deux constituants principaux sont dans le rapport de 2 à 1. Les moléculen peuvent être disposées l'une après l'autre (fig. 4.25, *b*, *c*) ou bies de façon parallèle (fig. 4.25, *d*). L'expérience montre l'existence de grandes périodes le long de la fibre, égales à 20 nm, ce qui répond aux modèles des figures 4.25, *c* et *d*, mais non pas à celui de la figure 4.25, *b*.

La microfibrille entière se compose de onze protofibrilles de ce type: hélices doubles (ou, peut-être, triples), dont deux se trouvent au centre de la microfibrille et neuf à sa périphérie (fig. 4.25, *e*). Ce rapport (9 : 2) est caractéristique de toute une série de structures fibrillaires biologiques (v. § 12.6).

La structure de la microfibrille est homogène. Les longueurs des portions en hélice qui forment les protofibrilles sont voisines pour les différentes espèces, alors que la composition des portions non

hélicoïdales présente des variations considérables. Les différences entre les kératines des vertébrés sont dues aux modes d'assemblage des microfibrilles et à la composition de la composante globulaire riche en soufre. La β-kératine est beaucoup moins bien étudiée.

Mentionnons encore une protéine fibrillaire : la *fibroïne* de la soie. Elle renferme principalement du Gly (plus de 40 %), ainsi qu'Ala,

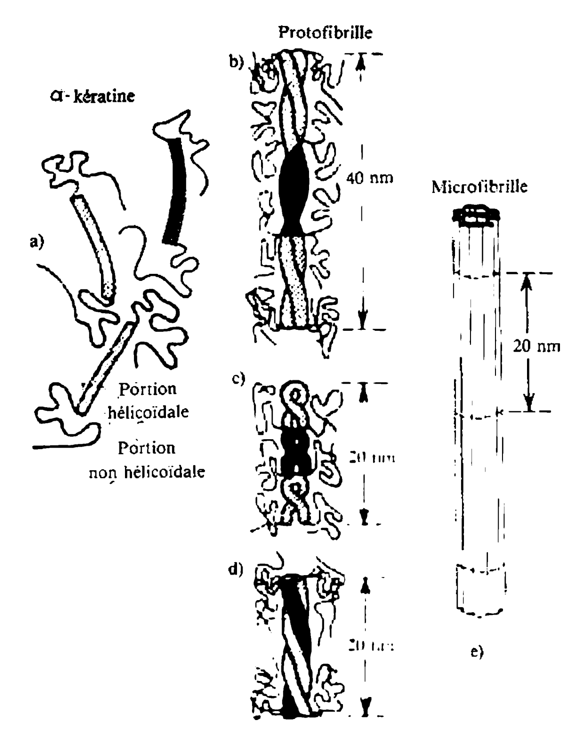


Fig. 4.25. Schéma hypothétique de l'organisation moléculaire de l'α-kératine : *a*) molécules isolées de deux composants principaux (noires et hachurées ; les dernières sont des protéines à faible teneur en soufre) ; *b*), *c*), *d*) protofibrilles ; *e*) microfibrille

Ser et Tyr. Les résidus Cys et Met sont absents dans sa composition, les autres acides aminés n'y sont présents qu'en très faibles quantités. Les radiogrammes de la fibroïne ressemblent à ceux de la β-kératine ; sa conformation normale est la forme β. La soie de *Bombyx mori* est constituée par un polypeptide (Gly—Ala)$_n$, celle de *Lyssax* par la polyalanine.

Les protéines contractiles seront considérées au chapitre 12.

CHAPITRE 5

MÉTHODES D'ÉTUDE DE LA STRUCTURE DES BIOPOLYMÈRES

§ 5.1. Radiocristallographie

Avant de reprendre notre exposé relatif aux protéines, penchons-nous sur les méthodes d'étude de la structure des biopolymères.

Les sciences naturelles disposent de deux méthodes principales pour étudier la structure des atomes et des molécules. Ces méthodes sont la chimie et l'optique au sens large de ce mot : étude de l'interaction du corps avec la lumière de toutes les longueurs d'onde, des rayons X aux ondes radio. La chimie déchiffre la structure primaire des biopolymères, la structure des centres fonctionnels des globules protéiques, etc. Mais elle est incapable, d'elle-même, d'établir la structure spatiale d'une protéine ou d'un acide nucléique.

La radiocristallographie renseigne directement sur l'arrangement des atomes dans les molécules et dans les cristaux. Les rayons X qui sont des ondes électromagnétiques d'une longueur de l'ordre de 0,1 nm, sont diffusés sur les couches électroniques des atomes. L'interférence des ondes diffusées par le corps donne une figure de diffraction. Lors de la diffusion sur un cristal la diffraction peut être considérée comme la réflexion des rayons X par les plans réticulaires (fig. 5.1). La diffraction a lieu, lorsque les ondes diffusées sont en phase (différence de marche égale à un nombre d'ondes n entier). Si la distance séparant les plans du cristal est égale à d, la condition de diffraction (de réflexion) est donnée par la *formule de Bragg*

$$n\lambda = 2d \sin \vartheta, \tag{5.1}$$

où λ est la longueur d'onde, ϑ l'angle formé par la direction du rayon incident et le plan du cristal. La déduction de la formule est explicitée par la figure 5.1.

La diffraction est déterminée par le fait que les distances interatomiques d du réseau (0,1 à 0,4 nm) ont le même ordre de grandeur que les longueurs d'onde (on utilise souvent le rayonnement K_α de Cu avec $\lambda = 0,154$ nm). L'idée fondamentale de la radiocristallographie consiste à déterminer les distances d en partant de la figure de diffraction obtenue pour des rayons, dont la longueur d'onde est connue. Une information détaillée sur la structure des corps ne

peut résulter que de l'étude des cristaux, dont les atomes sont disposés d'une façon périodique. Certainement, dans ce cas la formule élémentaire (5.1) ne suffit pas. Un réseau cristallin est caractérisé non pas par un, mais par trois périodes et le cristal possède toute

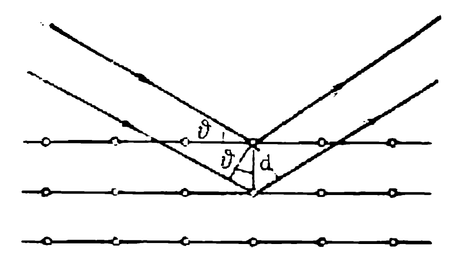


Fig. 5.1. Diffraction des rayons X

une gamme de plans réticulaires différents qui « réfléchissent » les rayons X. Ces plans sont caractérisés par des nombres entiers (*indices de Miller*), les distances interplans *d* variant suivant les indices. La figure 5.2 montre les sections des différents plans de réflexion

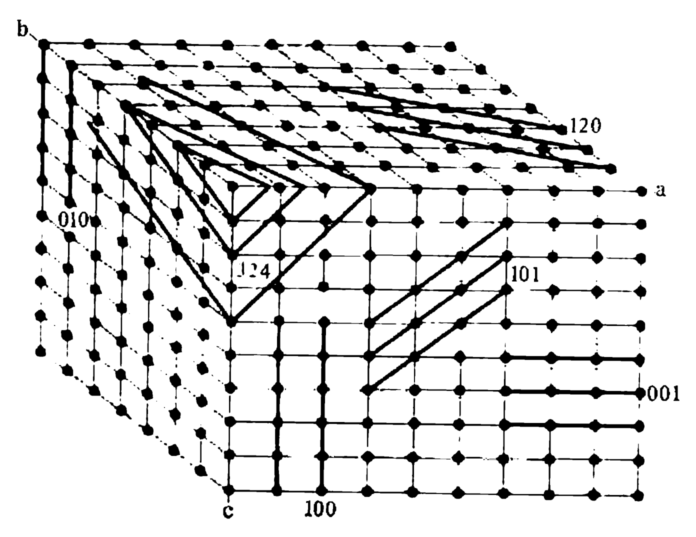


Fig. 5.2. Sections des plans de réflexion dans un réseau cristallin orthogonal

dans un réseau cristallin orthogonal. Respectivement, le radiogramme (le *diagramme de Laue*) obtenu pour un rayonnement monochromatique laisse voir une multitude de maximums de diffraction. Leur nombre est particulièrement important pour les cristaux protéiques, vu que leur réseau cristallin possède des périodes assez grandes. La figure 5.3 montre le radiogramme de la myoglobine

cristalline du cachalot. Un tel radiogramme s'obtient sur le film photographique; les méthodes d'enregistrement par ionisation sont beaucoup plus précises et sensibles.

Les maximums de diffraction présentent des intensités différentes. Leur analyse permet de déterminer la distribution de la densité électronique dans le cristal. Cette densité est exprimée en fonction des amplitudes de structure dépendant du nombre d'électrons dans

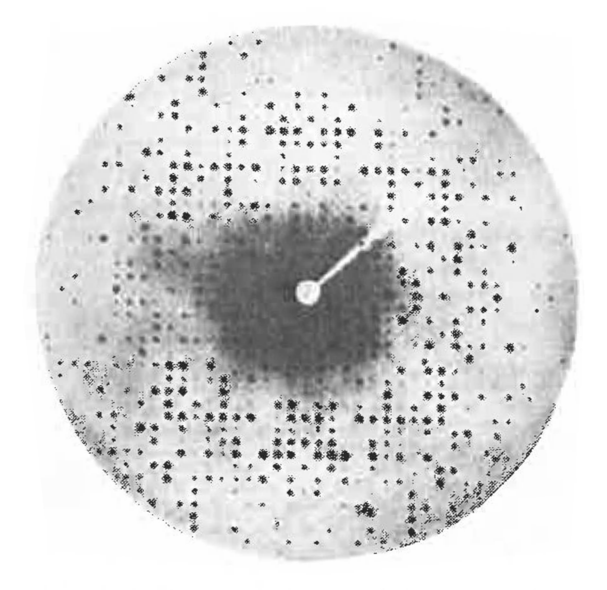


Fig. 5 3. Radiogramme de la myoglobine du cachalot

l'atome et de la direction de la diffusion. Les amplitudes de structure sont des grandeurs complexes caractérisées par des modules et des phases. La connaissance des phases est indispensable, si l'on veut établir la structure d'un objet. La méthode de détermination des phases que Perutz a développée pour le cas des protéines consiste à fixer des atomes lourds (atomes de mercure, par exemple) sur les molécules formant le cristal. L'atome lourd, riche en électrons et diffusant intensément les rayons X, provoque des variations sensibles dans l'intensité des taches de diffraction. En partant de la différence entre les amplitudes observées en présence et en l'absence de l'atome lourd, on détermine la phase. L'utilisation de dérivés de la protéine à analyser qui contiennent plusieurs atomes lourds permet de résoudre le problème des phases de façon univoque. Dans ce cas une condition *sine qua non* est la conservation complète de la structure du cristal protéique après introduction des atomes lourds. La méthode

de Perutz est une *méthode de substitution isomorphe*: les cristaux des dérivés mercuriels de la protéine sont isomorphes à la protéine non substituée.

La distribution de densité électronique ρ (x, y, z), trouvée d'après les intensités mesurées, est représentée à l'aide d'une sorte de « carte géodésique », où les lignes réunissent les points à mêmes valeurs

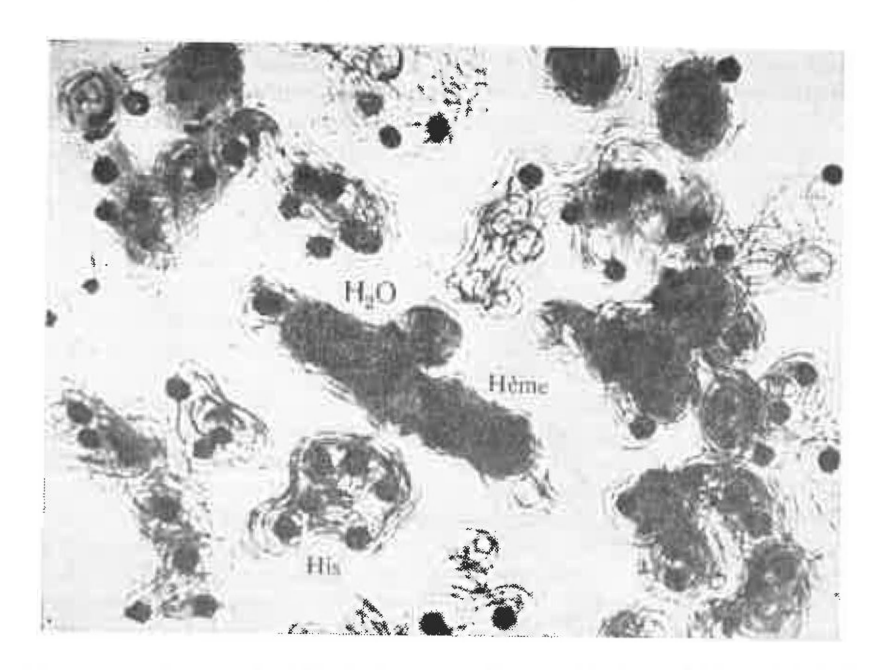


Fig. 5.4. Distribution spatiale de la densité électronique dans la myoglobine

de ρ. Vu la petitesse de leur facteur structural, les atomes d'hydrogène ne sont pas directement visibles sur la carte de densité électronique. On peut déterminer leur position en examinant les courbures des isolignes.

On peut rendre visible la distribution spatiale de la densité en superposant les diagrammes portés sur des feuilles de plastique transparent. L'image que l'on obtient par ce procédé pour la myoglobine est montrée sur la figure 5.4. Le résultat final d'une telle étude est le modèle tridimensionnel de la molécule protéique indiquant les positions de tous ses atomes (v. pp. 122, 198).

Avant les années 40 la radiocristallographie appliquée à des composés bas-moléculaires assez simples n'a servi qu'à confirmer leur structure établie par des méthodes chimiques et à fournir des données quantitatives relatives aux distances interatomiques. En

1944 Hodgkin a déchiffré la structure de la pénicilline qui ne se prêtait pas à l'analyse chimique. La molécule de pénicilline renferme 23 atomes autres que ceux d'hydrogène. Ensuite Hodgkin a établi la structure de la vitamine B_{12}, ce qui a déjà nécessité la détermination des coordonnées de 93 atomes. Après cela la radiocristallographie se voit appliquer à l'étude des protéines moléculaires les plus complexes. C'est Bernal qui a été à l'origine de cette direction dans la biophysique moléculaire et c'est à l'école scientifique de Cambridge qu'appartiennent les plus grandes réalisations dans l'étude des biopolymères (Bragg, Kendrew, Perutz). En 1957 Kendrew a établi pour la première fois la structure spatiale d'une protéine — la myoglobine (p. 122), après avoir déterminé la position de ses 2500 atomes.

Il n'est pas toujours possible de faire croître les cristaux protéiques nécessaires pour la radiocristallographie. Ces cristaux ont la forme de réseaux moléculaires, dont les nœuds sont occupés par les macromolécules globulaires. Il est établi que la dénaturation de ces molécules (transitions globule-pelote) peut précéder la fusion du cristal (Essipova et Makarov). Les cristaux protéiques renferment beaucoup d'eau; on les étudie donc en solution mère. Bernal et Hodgkin ont été les premiers à utiliser ce procédé : ils ont obtenu des dizaines de milliers de reflets nets sur les radiogrammes. Le nombre de reflets peut également atteindre des centaines de milliers. L'interprétation des radiogrammes aussi complexes est un travail très laborieux et durable, impossible sans le concours de calculateurs électroniques. Pour déterminer avec précision la phase qui correspond à chaque reflet, il est nécessaire de mesurer plusieurs fois son intensité lors de la diffraction sur la protéine pure, ainsi que sur ses dérivés à atomes lourds. Dans les calculs on a affaire à des dizaines de millions de nombres.

A ce jour la radiocristallographie de haute résolution (jusqu'à 0,20 nm et 0,14 nm pour la myoglobine) a été appliquée à presque 200 protéines globulaires. Mentionnons, notamment, le décodage des structures de la pepsine, de la leghémoglobine et de l'aspartate-aminotransférase (Andrééva, Vainstein et Borissov). On a étudié une série d'enzymes ; il y a des cas où l'on a pu établir, également, la structure des complexes que les enzymes forment avec les inhibiteurs et les analogues des substrats (v. Chapitre 6).

La radiocristallographie des protéines se heurte au problème de principe suivant : dans quelle mesure la structure de la molécule protéique à l'état cristallisé coïncide-t-elle avec sa structure biologiquement fonctionnelle en solution aqueuse ?

Si le globule protéique n'était pas un cristal apériodique, mais un système à fluctuations considérables, on pourrait penser que la cristallisation correspond au choix d'une ou de plusieurs conformations sur leur nombre global élevé en solution. Mais la structure

du globule est fixe. Comme nous l'avons déjà dit, les protéines cristallines renferment beaucoup d'eau et on les étudie en solution mère. En règle générale, les résultats d'une radiocristallographie opérée sur un cristal protéique et les données des mesures optiques de la même protéine mise en solution s'accordent entre eux. On observe, notamment, la coïncidence des taux d'hélices déterminés par les deux méthodes. Qui plus est, il est établi que certaines protéines conservent leur activité enzymatique à l'état d'un cristal fortement hydraté. La réponse à la question posée est, globalement, positive (voir, d'ailleurs, le paragraphe suivant). Par contre, les protéines soumises à un séchage lyophile, changent leur structure : les radiogrammes des cristaux protéiques séchés sont très pauvres en reflets.

Une étude récente, très fine et précise, a permis d'examiner la diffraction des rayons X sur les cristaux protéiques (metmyoglobine, myoglobine, lysozyme) en fonction de la température et de déterminer la mobilité des résidus acides aminés. Cela intéresse particulièrement la physique des enzymes (v. § 6.4).

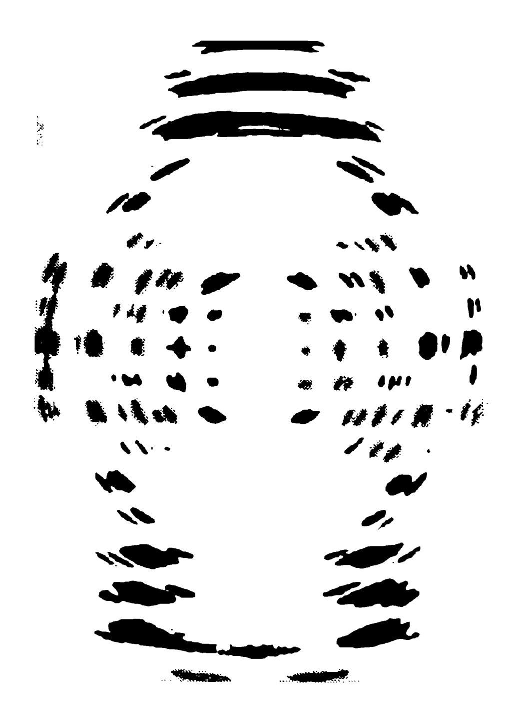


Fig. 5.5. Radiogramme du sel sodique d'ADN sous la forme cristalline *A*

Les radiogrammes des biopolymères fibrillaires (collagène, ADN) formant des systèmes périodiques dans une seule dimension sont caractérisés par des particularités spécifiques. On trouve sur la figure 5.5 le radiogramme d'un sel sodique d'ADN sous la forme *A* (v. § 7.2). Un système fibrillaire donne des taches de diffraction étendues (*strates*), disposées de préférence à proximité du méridien ou de l'équateur du radiogramme. L'image qu'on observe est ce qu'on appelle *texture axiale* d'un système à ordre unidimensionnel, dans lequel certains axes moléculaires sont approximativement parallèles à la direction choisie, tandis que les autres axes sont orientés de façon aléatoire. La texture possède un seul axe de symétrie d'ordre infini.

Quelques biopolymères, dont les ADN, se caractérisent par une structure hélicoïdale. Le radiogramme de la texture présente dans ce cas les taches de diffraction disposées de préférence le long de deux droites formant une croix oblique (de Saint-André) (v. fig. 5.5). Mais il ne faut pas croire qu'il suffit, pour déchiffrer une structure hélicoïdale, de regarder tout simplement le radiogramme et d'y constater la présence d'une croix oblique. L'objet considéré est un agrégat de molécules en chaîne, beaucoup moins ordonné qu'un cristal tridimensionnel. Par conséquent, la figure de diffraction est bien pauvre en reflets. On a mis au point plusieurs procédés permettant son interprétation. On applique la méthode « par essai et retouche »: en partant de conceptions physiques de la structure et de l'analyse de modèles atomiques, on construit un modèle d'essai représentant le système et c'est pour ce modèle qu'on calcule la distribution des intensités des reflets. Le modèle est considéré comme authentique, si la distribution calculée coïncide avec celle qu'on observe en réalité. Ensuite il est possible de calculer les phases et de trouver la distribution de densité électronique du biopolymère. C'est ainsi que l'on a découvert la fameuse double hélice d'ADN (v. § 7.2).

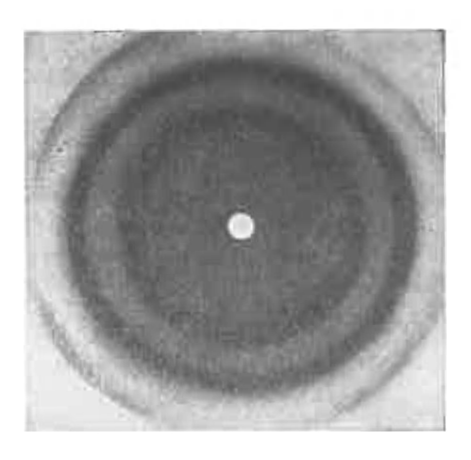


Fig. 5.6. Diagramme D.-S. du collagène

Ces agrégats de molécules en chaîne peuvent présenter des degrés d'ordre très variables, du vrai cristal au polymère amorphe à chaînes désordonnées. La théorie rigoureuse permet de mettre en évidence, en partant de la figure de diffraction, les perturbations de l'ordre provoquées par des déplacements, courbures, écarts de l'assemblage parallèle des chaînes macromoléculaires. Parfois les structures polymères forment des *paracristaux*: systèmes dépourvus de vrai ordre tridimensionnel, mais constitués de molécules en chaîne déplacées et orientées parallèlement les unes aux autres. Les perturbations de l'ordre avec conservation d'un parallélisme approximatif des axes moléculaires sont caractéristiques de certaines protéines fibrillaires (kératine, collagène), de la cellulose, et de quelques autres substances fibreuses.

Les polymères amorphes de synthèse (tel le caoutchouc) donnent, ainsi que les liquides, des figures de diffraction qui ont la forme

d'un ensemble d'anneaux concentriques (*diagrammes de Debye-Scherrer*, fig. 5.6). Une telle figure, beaucoup moins riche que le diagramme de Laue d'un cristal, est caractérisée par la présence d'un anneau flou dit *halo amorphe*, dont le diamètre est déterminé par les distances privilégiées entre les centres de dispersion. Si un tel polymère amorphe est étiré, il acquiert une texture et alors, à la place des anneaux d'intensité égale, on voit apparaître (comme on peut s'en rendre compte) des arcs plus ou moins longs à proximité du méridien ou de l'équateur de l'anneau. Les protéines fibrillaires, ainsi que les structures supramoléculaires telles que les fibres musculaires, fournissent des figures analogues.

§ 5.2. Dispersion diffuse des rayons X par les solutions de biopolymères

La dispersion diffuse des rayons X par les solutions de macromolécules renseigne directement sur la distribution des objets diffusants. La dispersion diffuse est la somme des diffusions sur les macromolécules isolées, disposées de façon désordonnée : elle correspond donc à la moyenne des intensités de la lumière diffuse pour toutes les orientations possibles des macromolécules. Plus les angles de diffusion sont grands, plus les éléments de structure qui assurent la diffraction des rayons X sont petits. Les petits angles de diffusion servent à étudier la structure générale des macromolécules en solution ; les angles moyens et grands permettent de discerner certaines particularités de leur structure intérieure.

La théorie de la diffraction aux petits angles part de conceptions proches de celles qu'on utilise dans la théorie de la diffusion de la lumière par les solutions de macromolécules (p. 87). La théorie permet de lier l'intensité de la diffusion (son indicatrice) observée sous tels ou tels angles aux distances entre les particules diffusantes. Si l'on veut déterminer la forme de la macromolécule, on est obligé de faire préalablement certaines hypothèses : la représenter comme une sphère, un ellipsoïde ou un cylindre allongé. Pour ces corps (ou pour d'autres corps simples) on calcule l'indicatrice de diffusion comme une fonction des paramètres géométriques de la macromolécule. Ainsi, pour la sphère on détermine le rayon électronique de giration (électronique, car les rayons X sont dispersés par les électrons). Ce rayon s'est avéré égal à 1,6 nm dans le cas de la myoglobine, ce qui est en bon accord avec les dimensions déterminées par la radiocristallographie de la myoglobine cristallisée. Lorsque le système diffusant est allongé, on trouve le rayon électronique de giration de sa section transversale. Les indicatrices de diffusion ont aidé à déterminer la taille, la forme et les masses moléculaires de plusieurs biopolymères. Ainsi, la lysozyme semble être équivalente à un ellipsoïde de révolution ayant les dimensions $2,8 \times 2,8 \times 5,0$ nm^3.

10—01676

Une information plus détaillée sur la forme des particules homogènes est tirée de l'analyse des courbes de diffusion à grands angles (allant de quelques degrés à $\sim 25°$ pour le rayonnement K_α de Cu). La diffusion à grands angles caractérise les éléments, dont la taille est comprise entre 4 et 0,5 nm.

On a représenté sur la figure 5.7 les indicatrices théoriques de diffusion calculées pour les différents modèles de la gamma-immunoglobuline G_1, ainsi que les points expérimentaux qui coïncident avec la courbe théorique répondant au modèle qui prévoit, pour les domaines, une disposition en T (v. p. 130). Ce modèle a été complètement confirmé plus tard par une étude cristallographique.

Fig. 5.7. Indicatrices théoriques de diffusion pour les différents modèles de l'immunoglobuline (*1* à *4*) et les points expérimentaux (*5*)

Le calcul de la diffusion doit obligatoirement tenir compte de l'influence des solvants sur la forme de l'indicatrice. Cette influence n'est pas spécifique: il est possible de remplacer le solvant par un continuum homogène et sans structure caractérisé par un seul paramètre, la densité électronique effective.

Ptitsyn a supposé que les protéines natives présentaient une certaine mobilité de leur structure en domaines (p. 117). La radiocristallographie trouve une telle mobilité dans les cristaux en partant de données indirectes (p. 143). Parallèlement, la diffusion à grands angles en solution a mis en évidence cette mobilité dans quelques cas précis.

La méthode consiste à comparer l'indicatrice expérimentale avec la valeur théorique calculée à partir de données cristallographiques. On n'a noté aucun écart significatif entre l'état cristallin et l'état dissous (dans le domaine des distances supérieures ou égales à 1 nm) pour la ribonucléase et pour les complexes formés par la ribonucléase et la lysozyme avec leurs inhibiteurs. Mais la courbe expérimentale pour la lysozyme sans inhibiteur est légèrement différente de la courbe théorique dans l'intervalle de distances situé près de 2 nm. Cet écart peut être interprété comme un élargissement fluctuationnel de l'interstice entre deux domaines de la protéine. Des écarts notables ont été trouvés sur les courbes relatives à la myoglobine, ce qui s'expliquerait par les déplacements fluctuationnels de son épingle GH par rapport aux autres parties de la molécule. On a également

trouvé des écarts sensibles entre les données relatives à la structure de la lysozyme cristallisée et dissoute du phage T4; le même fait a été constaté pour quelques autres protéines. Il existe donc des protéines qui, mises en solution, présentent des déplacements des domaines, dont les globules sont construits.

§ 5.3. Méthodes de la physique nucléaire

Quelques méthodes, telle la radiocristallographie utilisant le *rayonnement synchrotron* ou la *diffractométrie neutronique* des biopolymères cristallisés et dissous, sont issues de la physique nucléaire moderne qui se sert de puissants faisceaux de particules élémentaires: électrons, neutrons, etc.

Le rayonnement synchrotron (RS) accompagne le mouvement des particules chargées (notamment, des électrons) dans les accélérateurs circulaires. Le RS correspond à une perte de l'énergie dépensée pour accélérer les particules. Dans le domaine spectral de rayonnement X le RS possède une intensité supérieure de deux ordres de grandeur à celle du tube moderne à rayons X de 2 kW. La monochromatisation et la collimation rendent ce RS plus intense d'encore deux ordres de grandeur; une dernière amplification de 2 à 3 ordres est assurée à l'aide d'un dispositif d'emmagasinage spécial. Une très faible divergence du faisceau caractérise le RS. Tout cela permet d'utiliser le RS pour radiographier des objets qui changent rapidement.

Le rayonnement synchrotron est une méthode très prometteuse en ce qui concerne l'étude des processus biologiques liés aux transformations conformationnelles et aux autres variations de la structure au niveau moléculaire et supramoléculaire.

Le RS assure des possibilités importantes de la spectroscopie par rayons X. L'énergie des quanta de rayonnement X est juste suffisante pour ioniser les électrons internes des atomes. On observe une structure fine de la bande d'absorption à la limite de l'absorption des rayons X. Cette structure résulte de la réflexion, par les atomes voisins, de l'onde sphérique émise par l'absorbant primaire (tel un atome lourd situé au centre de la molécule) et de l'interférence avec les ondes diffusées par ces atomes. Cette méthode, dite EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure), a permis, par exemple, d'obtenir une information précieuse sur la structure de la *nitrogénase*, protéine qui renferme du molybdène.

Les microparticules sont soumises à la diffraction, lorsque la longueur de l'onde de de Broglie

$$\lambda = h/mv, \tag{5.2}$$

où h est la constante de Planck, m la masse de la particule et v sa vitesse, a le même ordre de grandeur que la distance entre les éléments de l'objet considéré.

La diffractométrie neutronique a trouvé des applications diverses. Un faisceau de neutrons provenant d'une pile atomique est soumis à la monochromation (on le laisse réflechir par une plaque cristalline, par exemple, de CaF_2). Les neutrons diffractés sont enregistrés à l'aide de compteurs. Ce n'est pas la couche électronique de l'atome, mais son noyau qui diffuse les neutrons, aussi le facteur de diffusion atomique est-il déterminé par la structure protono-neutronique du noyau et non pas par le numéro atomique. Les facteurs atomiques des isotopes sont donc sensiblement différents. Le facteur atomique pour l'hydrogène (le proton) est loin d'être le plus petit. Voilà pourquoi, à la différence de la radiocristallographie, la diffractométrie neutronique donne la possibilité de localiser avec certitude les atomes d'hydrogène. Elle a permis, en particulier, de déterminer en détail la structure de la glace : on a démontré que chaque atome H formant une liaison covalente et une liaison hydrogène

$$\mathrm{O{-}H\cdots O}$$

pouvait avoir deux positions : celle figurant ci-dessus et aussi la suivante :

$$\mathrm{O\cdots H{-}O}$$

En d'autres termes, le proton peut se trouver soit sur « son » oxygène, soit sur l'oxygène « étranger ». La liaison hydrogène de l'eau est caractérisée par des sauts protoniques entre deux minimums équivalents. La diffractométrie neutronique a donné de bons résultats dans l'étude des biopolymères. Pour ce qui est de la dispersion diffuse des neutrons par les solutions de biopolymères, cette technique est complémentaire de la diffusion des rayons X. En variant la proportion de l'eau lourde dans la solution aqueuse d'objet biologique, on fait varier l'amplitude totale de la diffusion des neutrons. On met ainsi en évidence la diffusion sélective due aux différents groupes fonctionnels. C'est ainsi que l'on a pu étudier, par exemple, la nature de la formation des complexes protéine-ADN dans la chromatine.

Une méthode spécifique d'étude de la structure des biopolymères est la *spectroscopie de résonance* γ fondée sur l'*effet Mössbauer*. Cet effet consiste en absorption résonnante par le noyau atomique du rayonnement γ monochromatique émis par un atome radioactif. Tous les composés naturels du fer renferment 2,2 % d'isotope ^{57}Fe. Cela permet d'étudier les ferro-protéines (hémoglobine, myoglobine, cytochromes, etc.) par application de la résonance γ. On soumet l'échantillon à l'action des rayons γ émis par l'isotope ^{57}Fe radioactif (tiré de ^{57}Co). Si l'on confère à la source une faible vitesse de déplacement par rapport à l'absorbant (à l'échantillon analysé) le

long de l'axe réunissant la source et l'échantillon, la fréquence du quantum γ subira une petite variation due à l'effet Doppler. A une certaine valeur de leur fréquence propre, les noyaux ^{57}Fe de l'échantillon absorberont les quanta γ d'une façon résonnante en passant de l'état fondamental à l'état excité. La fréquence de résonance du noyau ^{57}Fe dans l'hème et dans les autres groupes renfermant du fer est très sensible à l'action des atomes et des groupements voisins. On en tire une information sur la structure électronique des groupements atomiques à Fe des protéines dans leurs différents états. On peut amplifier l'effet en élevant la proportion de l'isotope ^{57}Fe dans le biopolymère. A cet effet on ajoute cet isotope aux aliments que reçoivent les animaux de laboratoire, dont on tire les substances à étudier. Parallèlement aux protéines à hème, la spectroscopie de résonance γ s'avère efficace dans le cas des protéines contenant à la fois du fer et du soufre (ferredoxine, rubrédoxine, etc.) et dans l'étude du mécanisme des réactions chimiques avec intervention de biopolymères ferrugineux. Il est également possible d'utiliser, dans l'étude de la structure, des isotopes à émission γ en qualité de traceurs, l'analyse étant effectuée à l'aide de l'effet Mössbauer.

L'étude par résonance γ ne se limite pas aux spectres d'absorption : on se sert aussi des spectres d'émission. Dans ce dernier cas la source contient des noyaux atomiques engendrant ceux de Mössbauer. Cette technique a été appliquée à l'étude de la structure de quelques combinaisons porphyriques du cobalt: la vitamine B_{12} et autres. La méthode par émission est extrêmement sensible: elle permet de suivre des processus biologiques rapides.

L'avenir de la spectroscopie de résonance γ est lié, premièrement, à la création de la « mössbauerographie »: radiographie utilisant le rayonnement des noyaux de Mössbauer. Deuxièmement, aujourd'hui on commence à mettre au point des lasers γ, ce qui doit, en principe, rendre possible une holographie au niveau moléculaire.

§ 5.4. Spectres d'absorption électroniques

Toutes les propriétés optiques et spectroscopiques des molécules qui fournissent une information extrêmement importante sur leur structure, sont déterminées, au bout du compte, par les distances séparant les niveaux énergétiques de la molécule et par les probabilités de transition entre ces niveaux. Ces niveaux correspondent aux différents états moléculaires: électroniques, de vibration et de rotation.

Les transitions électroniques des chaînes polypeptidiques et polynucléotiques (des protéines et des acides nucléiques) sont situées dans l'ultraviolet. Les bandes d'absorption de la liaison peptidique —CO—NH— se trouvent dans la région de 185 à 240 nm ; les bandes des chaînes latérales aliphatiques des résidus acides aminés se

situent à côté ou bien dans les régions d'ondes encore plus courtes. Les résidus aromatiques Trp, Phe, Tyr ont leurs bandes d'absorption situées dans la région de 280 nm. Les bases azotées des acides nucléiques absorbent la lumière aux environs de 260 nm. Les protéines et les acides nucléiques sont donc incolores : ils n'absorbent pas la lumière visible.

Cela s'accorde tout à fait bien avec la nature diélectrique des biopolymères, tout en rendant peu vraisemblables les affirmations sur leur conductibilité électronique. Nous avons déjà dit qu'un

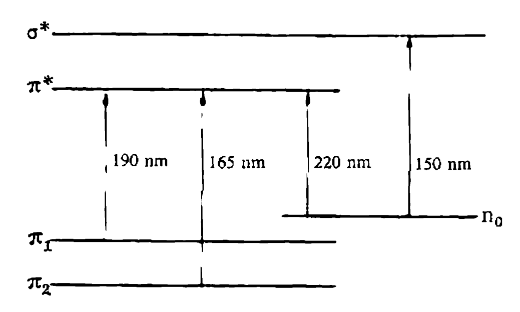


Fig. 5.8. Transitions électroniques dans le groupe amide

déplacement libre des électrons le long de la chaîne polymère impliquerait que celle-ci soit un système conjugué rigide constitué de liaisons simples et doubles se succédant à tour de rôle ou de cycles aromatiques conjugués. La flexibilité d'une chaîne est incompatible avec sa conductibilité électronique. Les chaînes conjuguées courtes sont colorées (ainsi, le carotène est rouge, v. p. 49), alors que les chaînes suffisamment longues absorbent toute la lumière visible, étant noires, voire à éclat métallique : c'est le cas d'un polymère de l'acétylène HC≡CH, obtenu récemment :

```
        H     H     H
        C     C     C
   \  //  \  //  \  //  \
     C     C     C
     H     H     H
```

Le calcul quantomécanique montre, en effet, qu'une énergie très élevée d'au moins 3,5 eV (soit 340 kJ/mol) est nécessaire pour exciter les électrons de conduction dans les protéines.

Certains semiconducteurs cristallins sont incolores, mais cela ne veut pas dire que les biopolymères sont des semiconducteurs. Il semble que la faible conductibilité électrique des biopolymères s'explique par la présence d'ions métalliques difficiles à séparer et qu'elle n'a aucun intérêt biologique.

Le monomère d'une chaîne protéique est similaire à la molécule d'un *amide* R_1—CO—NH—R_2. L'étude des spectres électroniques

des amides simples (formamide, méthylacétamide, amide myristique) met en évidence l'existence de transitions électroniques dans le groupe amide (fig. 5.8). Le schéma des transitions électroniques est fondé sur le calcul quantomécanique. Sur la figure 5.9 on voit les fonctions d'onde du groupe amide qui correspondent à ses électrons les plus mobiles. Sur la figure 5.8 le niveau π_2 correspond à l'orbitale liante, le niveau π^* à l'orbitale antiliante de C=O, le niveau π_1, à l'orbitale antiliante de l'azote, le niveau n à l'état de la paire électronique non partagée de l'atome d'oxygène. La transition $n\sigma^*$ est une transition électronique dans l'atome d'oxygène.

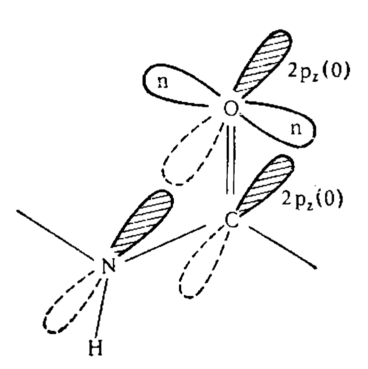


Fig. 5.9. Fonctions d'onde du groupe amide

Selon la *loi de Bouguer-Lambert-Beer*, l'intensité de la lumière ayant traversé une couche de substance absorbante d'épaisseur l s'écrit

$$I = I_0 \exp(-\varepsilon cl), \tag{5.3}$$

où I_0 est l'intensité de la lumière incidente, c la concentration de la substance absorbante (en mol/l), ε le coefficient d'absorption molaire (en l/(mol·cm)). Dans cette bande, correspondant à la transition du niveau initial 0 sur le niveau excité j, l'absorption est exprimée par ce qu'on appelle *force d'oscillateur* f_{0j}, cette dernière étant fonction de l'intensité de la bande d'absorption :

$$f_{0j} = 4{,}32 \cdot 10^{-9} \int \varepsilon_{0j}\, d\tilde{\nu}. \tag{5.4}$$

Ici $\tilde{\nu}$ est le nombre d'onde, i.e. le quotient de la fréquence de l'onde lumineuse par la vitesse de la lumière ; l'intégration s'étend à toute la bande d'absorption. Théoriquement,

$$f_{0j} = \frac{2m_e}{3\hbar e^2}\, \omega_{0j} p_{0j}^2, \tag{5.5}$$

où e et m_e sont la charge et la masse de l'électron, ω_{0j} est la fréquence circulaire correspondant à la transition $0 \to j$:

$$\omega_{0j} = (E_j - E_0)/\hbar, \tag{5.6}$$

E_0 et E_j étant, respectivement, les énergies de l'état fondamental et de l'état excité. Enfin p_{0j} est l'élément matriciel du moment dipolaire correspondant à la transition $0 \to j$, ou le *moment dipolaire de transition* :

$$p_{0j} = \int \psi_0 p \psi_j^*\, d\tau. \tag{5.7}$$

La quantité p_{0j}^2 est appelée *force dipolaire* de transition. La force d'oscillateur est une quantité sans dimension ; ses valeurs pour les différentes bandes peuvent varier entre des quantités très petites et 0,1-1,0. La formule (5.7) montre que p_{0j}^2 et la force d'oscillateur croissent parallèlement à l'augmentation du recouvrement des fonctions d'onde des états initial et final ψ_0 et ψ_j. La transition $n\pi^*$ dans le groupe amide présente une faible force dipolaire, car les nuages électroniques des états n et π^* sont presque perpendiculaires l'un à l'autre, avec un recouvrement bien faible (fig. 5.9).

Le calcul fournit, pour les différentes transitions, les longueurs d'onde λ_{0j} suivantes : $n\pi^*$ 234, $\pi_1\pi^*$ 160, $\pi_2\pi^*$ 135 nm. Dans le spectre du myristamide on observe les bandes à 220 ($n\pi^*$), 190 ($\pi_1\pi^*$) et 165 nm ($\pi_2\pi^*$). Le moment dipolaire de transition $\pi_1\pi^*$ est situé dans le plan HNCO, formant un angle de 9° avec la ligne joignant les atomes O et N ; le moment de transition $n\pi^*$ est perpendiculaire à ce plan.

A l'intérieur d'une chaîne polymère les spectres des groupes amide changent par suite de l'interaction électronique de ces groupes. Ainsi, les niveaux énergétiques des groupes terminaux de la chaîne sont autres que les niveaux des groupes internes. Les effets spectraux qui intéressent le plus la biophysique sont ceux qui résultent de l'interaction résonnante entre excitons : ce sont la *scission de Davydov* et l'*hypochromisme*.

En étudiant les propriétés optiques des cristaux moléculaires, Davydov a démontré la possibilité d'un transfert résonnant de l'énergie d'excitation entre les niveaux énergétiques excités des chromophores (groupements absorbant la lumière) identiques formant un ensemble régulier. Une onde d'excitation dite *exciton* (Frenkel) peut se propager dans un système régulier. Cette interaction résonnante fait éclater les niveaux énergétiques qui forment alors une large bande. Les règles de sélection n'autorisent, lors de l'absorption ou de l'émission de la lumière, que les transitions sur des niveaux strictement définis de la bande, la polarisation des bandes d'absorption étant déterminée par la symétrie du système régulier entier.

L'interaction de résonance est possible déjà dans le dimère : dans ce cas elle conduit au dédoublement du niveau initial. La figure 5.10 schématise une telle scission pour les cas où les dipôles de transition sont parallèles et colinéaires. Les flèches continues indiquent les transitions permises, les flèches discontinues les transitions interdites. Moffitt a calculé la scission excitonique pour la transition $\pi_1\pi^*$ à 190 nm dans une hélice α. Selon Davydov, cette bande se scinde en deux, une des bandes nouvellement formées étant polarisée le long de l'axe de l'hélice et l'autre perpendiculairement à cet axe. La différence de fréquence entre les deux bandes atteint 2700 cm^{-1}, soit près de 10 nm dans l'échelle des longueurs d'onde.

L'interaction de résonance conduit à une redistribution des inten-

sités des bandes spectrales. Dans le cas de deux dipôles de transition colinéaires la bande à moindre fréquence (dont la longueur d'onde est la plus élevée) voit son intensité augmenter au détriment de la

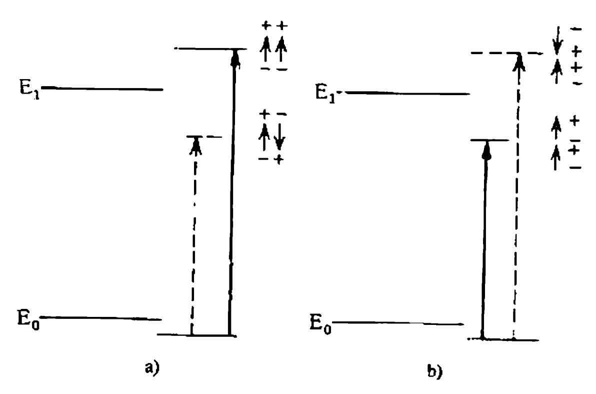


Fig. 5.10. Niveaux d'énergie pour le système de moments dipolaires de transition parallèles (*a*) et colinéaires (*b*)

bande à moindre longueur d'onde. On voit apparaître l'hyperchromisme de la bande des ondes longues. Au contraire, dans le cas des moments dipolaires parallèles l'intensité de la bande des ondes longues diminue et celle de la bande des ondes courtes s'accroît. On voit apparaître l'hypochromisme de la bande des ondes longues. C'est l'hypochromisme que l'on observe dans les spectres des polypeptides et des protéines en hélice α, ainsi que des acides nucléiques en double hélice. Lorsque les moments dipolaires sont perpendiculaires l'un à l'autre, il n'y a aucune redistribution des intensités.

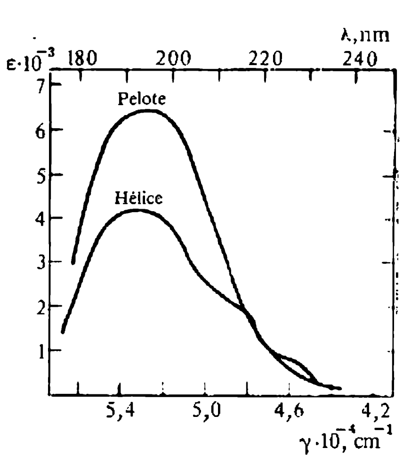


Fig. 5.11. Spectre d'absorption de l'APG

La figure 5.11 donne les résultats expérimentaux obtenus pour l'acide polyglutamique (APG). A pH 4,9 le polymère a la forme d'hélice α, à pH 8,0 celle de pelote. On y voit très bien deux bandes issues de la scission de Davydov, ainsi qu'un hypochromisme fort.

La force d'oscillateur de la bande ondes longues de l'hélice α présente une diminution de 30 %. Dans la pelote les bandes ondes

longues de l'APG et de la polylysine sont caractérisées par une force d'oscillateur de 0,110; dans l'hélice α elle vaut 0,075.

L'effet hypochromique a été étudié en détail aussi bien expérimentalement que théoriquement. On a examiné la dépendance de cet effet avec le milieu ambiant, le pH et la force ionique.

Il est évident que la disparition de l'hypochromisme lors de la transition hélice-pelote peut fournir une mesure quantitative du taux d'hélices α de la protéine. Vu les difficultés qui accompagnent les mesures spectrophotométriques dans l'ultraviolet lointain aux environs de 200 nm, cette méthode est peu usitée dans l'étude des protéines. Elle est, par contre, simple et efficace pour les acides nucléiques, dont les bandes ondes longues sont situées aux environs de 260 nm.

§ 5.5. Luminescence

De même que les spectres d'absorption, les spectres de luminescence (de fluorescence) des molécules complexes sont flous et dépourvus de détails fins. Ce n'est pas le cas des *spectres de raies de Chpolski* observés dans des conditions particulières et que la biophysique n'utilise pas encore. Ce ne sont pas tellement les longueurs d'onde des maximums des bandes qui s'avèrent riches en informations, mais l'intensité, la polarisation et la durée de la fluorescence.

Posons qu'à l'instant $t = 0$ il y a $n(0)$ molécules excitées. Si l'on désigne par f la probabilité d'une transition état excité-état non excité avec émission d'un quantum de lumière pendant une seconde et par g la probabilité d'une transition sans radiation, où l'énergie d'excitation se transforme en chaleur, on a

$$dn = -(f + g)\, n\, dt \tag{5.8}$$

et

$$n(t) = n(0) \exp[-(f + g)\, t]. \tag{5.9}$$

La durée moyenne de l'état excité s'écrit

$$\tau = \int_{t=0}^{\infty} t\, dn \Big/ \int_{t=0}^{\infty} dn = \frac{1}{f+g}. \tag{5.10}$$

L'intensité de la fluorescence décroît de façon exponentielle. Dans la plupart des cas τ a l'ordre de grandeur de 10^{-8} à 10^{-9} s, mais ce temps peut aussi être beaucoup plus prolongé.

Le rendement quantique est exprimé par la proportion des transitions avec radiation

$$\gamma = f/(f + g). \tag{5.11}$$

Dans le cas d'une solution la distribution équilibrée des molécules suivant leurs réserves en énergie vibratoire ne dépend pas de l'excès de cette énergie due à l'excitation et, par conséquent, de la

longueur d'onde λ_{exc} de la lumière excitatrice. Les grandeurs τ et γ sont donc également indépendantes de λ_{exc} (*loi de Vavilov*).

Le rayonnement de fluorescence des molécules complexes (notamment, des colorants) se trouve polarisé même dans les conditions d'une lumière incidente naturelle. La théorie de la polarisation de la luminescence a été élaborée par Vavilov et Féofilov. La lumière excitatrice est absorbée par les molécules orientées d'une manière déterminée par rapport au vecteur électrique de l'onde lumineuse.

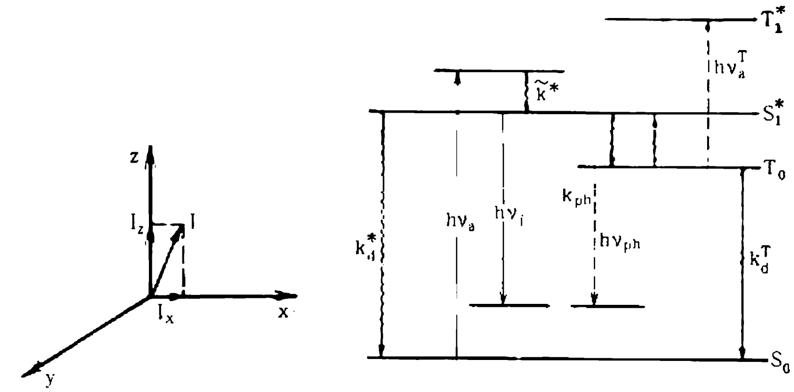


Fig. 5.12. Schéma illustrant la polarisation de la luminescence

Fig. 5.13. Schéma des transitions énergétiques lors de la luminescence

L'énergie absorbée est émise par une autre transition électronique, à laquelle correspond en général une autre polarisation dans la molécule, c'est-à-dire une autre orientation du dipôle de transition. Si la durée de vie de l'état excité (le temps de transfert d'énergie) est petit devant le temps que dure la réorientation de la molécule, la luminescense est polarisée. Le *degré de polarisation* s'exprime par

$$P=\frac{I_z-I_x}{I_z+I_x}, \qquad (5.12)$$

où I_z et I_x sont les intensités du rayonnement avec les composantes du vecteur électrique le long des axes des z et des x, la lumière incidente étant orientée le long de l'axe des y (fig. 5.12). Comme le montre le calcul, la valeur limite de P pour la lumière incidente naturelle et les molécules fixes orientées de façon arbitraire est égale à 1/3. Le mouvement rotatif des molécules ou des groupements atomiques dépolarise la fluorescence. La théorie fournit la *formule de Perrin* :

$$\frac{1}{P}=\frac{1}{P_0}+\left(\frac{1}{P_0}+\frac{1}{3}\right)\frac{kT}{V\eta}\tau. \qquad (5.13)$$

Ici P est le degré de polarisation observé ; P_0 sa valeur limite en l'absence de dépolarisation, c'est-à-dire lorsque $T\to 0$ ou lorsque la viscosité du milieu $\eta\to\infty$; V le volume de la molécule ; τ la durée

de vie de l'état excité. Le degré de polarisation diminue avec l'accroissement de la mobilité de la molécule rayonnante et peut servir de mesure pour la mobilité.

Les transitions sans radiation, grâce auxquelles le rendement quantique γ est inférieur à 1, se ramènent à la transformation de l'énergie lumineuse en chaleur. La molécule, excitée par le photon $\hbar\omega_a$ jusqu'à un certain niveau singulet E_{S1}, peut émettre, avec la probabilité f, le quantum $\hbar\omega_f$; on peut s'y trouver en présence d'une conversion interne de l'énergie en vibrations, accompagnée d'une dégradation en chaleur; la molécule peut également passer, sans émettre aucun rayonnement, sur le niveau triplet métastable E_{T0} en dépensant une partie de l'énergie d'excitation. Plus tard l'énergie E_{T0} peut se dégager sous la forme d'un photon de phosphorescence $\hbar\omega_{ph}$ ou bien dégrader en chaleur. Tous ces processus sont représentés sur la figure 5.13.

Une autre cause importante de la réduction du rendement quantique est l'*extinction de la luminescence*. Cette extinction peut être provoquée par des corps étrangers ou bien par la migration de l'énergie d'excitation d'une molécule à une autre (extinction due à la concentration). Il ne s'agit pas de la radiation suivie de la réabsorption de la lumière, mais d'un transfert direct de l'énergie d'excitation par interaction résonnante des molécules, interaction qui croît avec la diminution des distances intermoléculaires ou, autrement dit, avec l'augmentation de la concentration. Une telle interaction se produit, lorsque les bandes d'absorption et d'émission des molécules présentent un recouvrement important.

La différence entre les interactions par résonance et par excitons (p. 152) est quantitative. La migration résonnante de l'énergie a lieu, lorsque l'énergie d'interaction est élevée (quand elle est sensiblement supérieure à la largeur de la zone des vibrations électroniques). Dans ce cas le transfert d'énergie est rapide et l'on peut faire abstraction de l'effet des vibrations. A la différence des spectres d'excitons qui résultent d'une interaction faible (dont l'énergie est de loin inférieure à la largeur de la zone), les spectres des molécules qui interagissent par résonance ne présentent aucune structure de vibration.

La migration d'énergie provoque la dépolarisation de la luminescence. La molécule qui absorbe le quantum est toujours orientée dans l'espace de telle ou telle manière. Si la même molécule rayonnait, la lumière émise serait caractérisée par une certaine valeur du degré de polarisation P. Or, pendant le temps τ qui sépare l'absorption et l'émission, plusieurs actes de transfert d'énergie à d'autres molécules possédant des orientations quelque peu différentes ont pu avoir lieu. Au bout d'un certain temps toutes les molécules excitées perdent leur orientation initiale et le rayonnement se trouve dépolarisé.

Il faut souligner que la migration d'énergie est possible aussi bien entre des molécules identiques qu'entre des molécules différentes, à condition qu'il y ait recouvrement entre la bande d'absorption d'une espèce moléculaire et la bande de fluorescence de l'autre espèce moléculare.

La biophysique accorde une grande importance à l'étude des caractéristiques de la luminescence ayant trait à la migration d'énergie. Le transfert d'énergie d'un centre luminogène du biopolymère à un autre permet d'estimer leur disposition relative. L'étude de la luminescence polarisée renseigne sur la structure conformationnelle et sa dynamique, c'est-à-dire sur la mobilité de la macromolécule et de ses parties. On trouve souvent, parmi les luminophores, des systèmes cycliques à électrons π. Ainsi, les résidus acides aminés aromatiques des protéines sont luminescents. Les propriétés spectrales des aminoacides correspondants figurent dans le tableau 5.1.

Tableau 5.1

Propriétés spectrales des aminoacides aromatiques

Acide aminé	λ_{max}, nm (absorption)	ε, mol$^{-1}\cdot$l^{-1}	λ_{max}, nm (fluorescence)	γ
Phénylalanine	257	200	282	0,04
Tyrosine	257	1300	303 à 304	0,21
Tryptophane	280	5600	353	0,21

La fluorescence de la Phe est pratiquement invisible. La luminescence de la Tyr est du Trp est sensiblement fonction du pH et de la polarité du milieu, de la protonisation des groupements voisins. Dans les protéines natives γ pour la Tyr est de loin inférieur à 0,21 ; par contre, γ pour le Trp peut aller jusqu'à 0,32. La dénaturation par l'urée rend égales les valeurs de γ de la Tyr et du Trp : leurs rendements quantiques sont sensibles aux variations de conformation. Le fait est que l'extinction de la luminescence de la Tyr et du Trp dépend de l'environnement et, notamment, de sa hydrophobie. De plus, les extincteurs étrangers viennent plus facilement à bout des résidus luminescents qui passent du noyau du globule à sa surface par suite des variations de conformation. L'étude de la luminescence des protéines (des résidus aromatiques) a fourni des renseignements précieux sur leurs propriétés conformationnelles et sur leurs interactions avec d'autres molécules et ions.

L'emploi de marqueurs luminescents donne également des résultats bien précieux. La structure conformationnelle et la dynamique des complexes que les acides nucléiques forment avec les lumino-

phores (colorants acridiniques) sont aisées à étudier à l'aide de la luminescence polarisée.

Il existe trois courants de la recherche biophysique, liés directement ou indirectement à la luminescence et qui apellent des observations critiques.

1. Certains auteurs ont fondé leurs tentatives d'expliquer des processus biologiques sur les concepts de migration d'énergie issus de l'étude de la luminescence. Beaucoup de ces processus se déroulent rapidement, par « tout ou rien ». La vraie explication de ces phénomènes devrait partir de leur nature coopérative. Une telle explication a déjà été obtenue relativement à de nombreux problèmes. Mais on trouve toujours dans la littérature des idées sur la migration d'énergie dans le biopolymère ou dans l'eau qui l'entoure et qui serait « structurée ». C'est sur cette base que l'on a tenté d'expliquer, par exemple, la contraction musculaire. Ces idées de la biologie « obscure » sont injustifiées.

2. En 1923 Gourvitch déclare avoir découvert les *rayons mitogénétiques* que les cellules émettraient au cours de leur division mitotique et qui stimuleraient, à leur tour, les mitoses. Pendant plusieurs années on a tenté — en vain — de détecter ce rayonnement par des méthodes physiques précises. On n'a pu confirmer l'existence des rayons mitogénétiques et leur étude a été abandonnée. Les informations sur des rayonnements ultraviolets spécifiques qui apparaîtraient au cours de certains processus biologiques sont également fausses.

3. Les cellules et les tissus des végétaux et des animaux émettent souvent à l'air une faible lueur à laquelle on a attribué une valeur biologique. Mais il s'agit en fait de la *chimiluminescence* qui résulte, principalement, de l'oxydation de lipides. De nombreux composés organiques émettent de la lumière au cours de l'oxydation. Il semble que cette luminescence n'a aucune valeur biologique. On peut l'utiliser comme indice des processus d'oxydation.

§ 5.6. Activité optique naturelle

Nous avons déjà parlé de la chiralité des biopolymères qui possèdent de ce fait une activité optique naturelle (font tourner le plan de polarisation de la lumière), ainsi qu'un *dichroïsme circulaire* (voir plus bas).

L'activité optique — la faculté qu'a un milieu chiral de faire tourner le plan de polarisation de la lumière qui le traverse — fut découverte par Arago en 1811. Nous savons grâce à Fresnel (1820) que l'activité optique est le résultat de la *biréfringence circulaire*: vitesses différentes de propagation que connaît, dans un milieu donné, la lumière à polarisation circulaire, suivant que cette polarisation est dirigée vers la droite ou vers la gauche. Dans l'onde droite

le vecteur de l'intensité du champ électrique du rayon qui va vers l'œil de l'observateur tourne dans le sens des aiguilles d'une montre; dans l'onde gauche ce vecteur tourne dans le sens inverse. Une onde polarisée rectilignement peut être décomposée en deux ondes, droite et gauche, polarisées de façon circulaire, car le vecteur électrique qui oscille le long d'une direction est la somme de deux vecteurs tournant dans le sens des aiguilles d'une montre et dans le sens inverse (fig. 5.14, *a*). Si l'une de ces ondes se propage plus vite que l'autre, le vecteur total s'écarte d'un angle d'autant plus grand que la différence des vitesses (des indices de réfraction) est plus élevée (fig. 5.14, *b*). Lorsque le rayon traverse une couche de substance d'épaisseur l, le plan de polarisation se trouve tourné de l'angle

$$\varphi = \frac{\pi}{\lambda}(n_L - n_D)\, l, \qquad (5.14)$$

où λ est la longueur d'onde lumineuse, n_L et n_D sont les indices de réfraction pour les ondes gauche et droite.

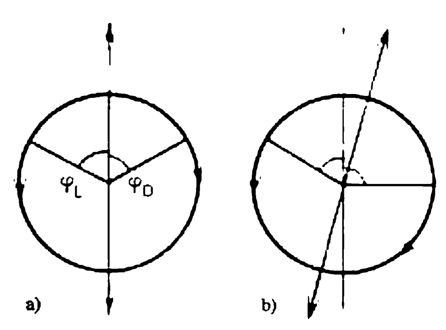


Fig. 5.14. Décomposition d'une onde à polarisation plane en ondes à polarisation circulaire à droite et à gauche (*a*) et rotation du plan de polarisation par biréfringence circulaire (*b*)

On appelle rotation spécifique d'une solution contenant c (g/cm³) de corps optiquement actif la quantité

$$\varphi_{sp} = \varphi / lc. \qquad (5.15)$$

Si l est mesuré en dm et φ en radians, on a

$$\varphi_{sp} = \frac{180}{\pi}\frac{10}{c}\frac{\varphi}{l}\ \text{rad}\cdot\text{dm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{3}. \qquad (5.16)$$

Pour un corps pur on remplacera c par sa densité. On appelle *rotation moléculaire* la quantité

$$\mathcal{M} = \frac{M}{100}\varphi_{sp} = \varphi\,\frac{18}{\pi}\frac{M}{cl}, \qquad (5.17)$$

où M est la masse moléculaire du corps optiquement actif.

Tout corps réfracte et absorbe la lumière. Dans le domaine de l'absorption propre de la lumière par le corps l'indice de réfraction est une quantité complexe

$$\tilde{n} = n - i\varkappa, \qquad (5.18)$$

où $\varkappa$ est le coefficient d'absorption lié au coefficient d'absorption molaire ε (v. (5.3)) par la relation

$$\varkappa = \varepsilon \frac{\lambda c}{4\pi} \frac{1000}{M}, \tag{5.19}$$

où M est la masse moléculaire et c est exprimé en g/cm³. On utilise souvent la loi de Bouguer-Lambert-Beer sous la forme

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon' c' l}. \tag{5.20}$$

Ici c' est exprimé en $\mathrm{mol \cdot l^{-1}}$ et $\varepsilon' = 0{,}4343\varepsilon$.

Un corps qui présente une biréfringence circulaire absorbe différemment la lumière suivant qu'elle possède une polarisation circulaire droite ou gauche (ce qui veut dire que ce corps présente également du dichroïsme circulaire). L'angle de rotation du plan de polarisation est aussi une quantité complexe

$$\tilde{\varphi} = \frac{\pi}{\lambda} (\tilde{n}_L - \tilde{n}_D)\, l = \frac{\pi}{\lambda} (n_L - n_D)\, l - i \frac{\pi}{\lambda} (\varkappa_L - \varkappa_D)\, l. \tag{5.21}$$

Dans la région de l'absorption propre, la lumière polarisée rectilignement acquiert une polarisation elliptique. La mesure de l'ellipticité est fournie par la quantité

$$\theta = \frac{\pi}{\lambda} (\varkappa_L - \varkappa_D). \tag{5.22}$$

L'ellipticité moléculaire est définie comme suit:

$$\theta_{mol} = \theta \frac{18}{\pi} \frac{M}{c} = 2{,}303 \cdot \frac{4500}{\pi} (\varepsilon'_L - \varepsilon'_D) \equiv 3300 (\varepsilon'_L - \varepsilon'_D). \tag{5.23}$$

La théorie doit expliquer l'origine des différences $n_L - n_D$ et $\varkappa_L - \varkappa_D$ (soit $\varepsilon_L - \varepsilon_D$) et trouver la relation entre ces quantités et la structure de la substance correspondante. Dans l'optique ordinaire — la théorie de la réfraction et de la dispersion de la lumière — les dimensions des molécules sont considérées comme infiniment petites devant la longueur d'onde de la lumière λ. En d'autres termes, on n'y tient pas compte des différences de phase que l'onde lumineuse présente en différents points de la molécule. En réalité, dans le cas des petites molécules, le rapport de la taille moléculaire à la longueur d'onde de la lumière visible est de l'ordre de 10^{-3}, ce qui est une quantité non négligeable dans le cadre de la théorie de l'activité optique, car l'effet entier est justement déterminé par les différences de phase de l'onde lumineuse dans les limites de la molécule. La spectropolarimétrie est, en quelque sorte, une *interférométrie moléculaire*, ce qui explique la sensibilité élevée de l'activité optique vis-à-vis des changements de la structure moléculaire.

On ne doit donc pas négliger les distances entre les électrons d'une molécule soumis à l'action d'une onde lumineuse. Il faut

également prendre en considération l'interaction de ces électrons: en son absence il n'y a aucune activité optique. Enfin, la molécule ou le cristal doivent être chirals: n'avoir ni plan, ni centre de symétrie.

La théorie quantique rigoureuse de l'activité optique (Rosenfeld) exprime la rotation du plan de polarisation par les dipôles de transition, électriques et magnétiques (cf. p. 151). Pour un milieu isotrope contenant N_1 molécules chirales dans 1 cm³ on a:

$$\varphi = \frac{16\pi^3 N_1 \beta}{\lambda^2} \frac{n^2+2}{3} l, \qquad (5.24)$$

où n est l'indice de réfraction et β une constante qui caractérise l'activité optique. L'indice de réfraction est lié à la polarisabilité a par la *formule de Lorentz-Lorenz*

$$\frac{n^2-1}{n^2+2} = \frac{4\pi}{3} N_1 a. \qquad (5.25)$$

La polarisabilité a qui détermine la réfraction de la lumière et la constante β, dont dépend la biréfringence circulaire, sont exprimées de façon analogue:

$$a = \frac{2}{3\hbar} \sum_j \frac{\omega_j p_{0j}^2}{\omega_j^2 - \omega^2}, \qquad (5.26)$$

$$\beta = \frac{2\pi c}{3\hbar} \sum_j \frac{\operatorname{Im}\{\boldsymbol{p}_{0j} \boldsymbol{m}_{j0}\}}{\omega_j^2 - \omega^2}. \qquad (5.27)$$

Ces formules se vérifient pour les molécules dans l'état fondamental 0 (à électrons non excités), loin des bandes d'absorption de fréquences $\omega_j \equiv \omega_{0j}$. Ici ω est la fréquence circulaire de la lumière incidente, c la vitesse de la lumière, $\hbar = h/2\pi$, h la constante de Planck, $\boldsymbol{p}_{0j}$ le moment dipolaire électrique de transition (v. p. 151), $\boldsymbol{m}_{j0}$ le *moment dipolaire magnétique de transition*. Le symbole Im indique que β ne comporte que les parties imaginaires des produits complexes $\boldsymbol{p}_{0j}\boldsymbol{m}_{j0}$. La sommation s'étend à toutes les transitions $0 \to j$. Comme on l'a déjà vu (p. 152), la quantité $p_{0j}^2 = D_j$, dite force dipolaire, est directement liée à l'intensité de l'absorption de la lumière. La somme des forces dipolaires pour toutes les transitions $0 \to j$ est une constante proportionnelle au nombre d'électrons dans la molécule. La quantité

$$R_j = \operatorname{Im}\{\boldsymbol{p}_{0j} \boldsymbol{m}_{j0}\} \qquad (5.28)$$

est dite *force rotationnelle* de la transition $0 \to j$.

A la différence de la somme des forces dipolaires, la somme des forces rotationnelles sur tous les j est nulle.

11—01676

C'est facile à démontrer:

$$\sum_j R_j = \sum_j \mathrm{Im}\left\{ \int \psi_0 p \psi_j^* \, d\tau \int \psi_j m \psi_0^* \, d\tau \right\} =$$

$$= \mathrm{Im}\left\{ \int \psi_0 (pm) \psi_0^* \, d\tau - \int \psi_0 p \psi_0^* \, d\tau \int \psi_0 m \psi_0^* \, d\tau \right\} = 0, \qquad (5.29)$$

car les éléments matriciels diagonaux $\langle 0 \mid pm \mid 0 \rangle$, $\langle 0 \mid p \mid 0 \rangle$ et $\langle 0 \mid m \mid 0 \rangle$ sont réels, ce qui veut dire que leurs parties imaginaires sont nulles.

La force rotationnelle R_j s'annule, lorsque la molécule possède un plan ou un centre de symétrie. Les facteurs électrique et magnétique ne peuvent être simultanément non nuls en l'absence de chiralité. Dans ces cas tous les états de la molécule sont soit pairs, soit impairs, suivant que la fonction d'onde garde son signe ou le change lors de la réflexion au centre ou dans le plan. Dans les coordonnées cartésiennes les opérateurs des moments p et m ont la forme suivante:

$$p = e\,(ix + jy + kz),$$

$$m = -i\frac{e\hbar}{2m_e c}\left\{ i\left(y\frac{\partial}{\partial z} - z\frac{\partial}{\partial y}\right) + j\left(z\frac{\partial}{\partial x} - x\frac{\partial}{\partial z}\right) + k\left(x\frac{\partial}{\partial y} - y\frac{\partial}{\partial x}\right)\right\}, \qquad (5.30)$$

où e et m_e sont la charge et la masse de l'électron, $\hbar = h/2\pi$, h est la constante de Planck, c la vitesse de la lumière, i, j, k sont les vecteurs unités le long des axes de coordonnées. Posons que la molécule considérée a un centre de symétrie. Lors de la réflexion au centre p change de signe, alors que m garde son signe. Par conséquent, $\langle 0 \mid p \mid j \rangle$ ne diffère de zéro que dans le cas des transitions entre les états pairs et impairs. Par contre, $\langle j \mid m \mid 0 \rangle$ n'est différent de zéro que pour les transitions entre états de même parité. Il en découle que le produit scalaire de ces éléments de matrice est nul, quelle que soit la transition. On démontre de façon analogue la nullité de R_j pour les molécules à plan de symétrie.

Lorsqu'on passe de l'antipode droit à l'antipode gauche, on voit R_j changer de signe. R_j a l'ordre de grandeur du produit des moments moléculaires électrique et magnétique. Le moment de transition p_{0j} est de l'ordre de 1 D $= 10^{-18}$ u.e.s., le moment magnétique de l'électron est égal à $0{,}93 \cdot 10^{-20}$ erg·Gs^{-1}. L'ordre de grandeur de R_j est donc de 10^{-38} u.e.s. Il est plus pratique d'utiliser la force rotationnelle réduite exprimée par le nombre de l'ordre de l'unité:

$$R' = \frac{100}{\mu_B p_d} R,$$

où μ_B est le magnéton de Bohr et $p_d = 1$ D.

Il est également nécessaire de tenir compte de l'extinction dans la région de la bande d'absorption de fréquence ω_j. On obtient alors une expression complexe pour β:

$$\beta_j = \frac{2c}{3\hbar}\frac{R_j}{\omega_j^2 - \omega^2 + i\omega\Gamma_j} = \frac{2c}{3\hbar}\frac{R_j(\omega_j^2 - \omega^2)}{(\omega_j^2 - \omega^2)^2 + \omega^2\Gamma_j^2} - \frac{2ic}{3\hbar}\frac{R_j\omega\Gamma_j}{(\omega_j^2 - \omega^2)^2 + \omega^2\Gamma_j^2}. \qquad (5.31)$$

La quantité Γ_j caractérise la demi-largeur de la bande d'absorption dans l'échelle des fréquences. Le premier terme de (5.31) décrit la rotation du plan de polarisation, le second le dichroïsme circulaire (p. 160). C'est de façon analogue que l'on obtient, à proximité de la

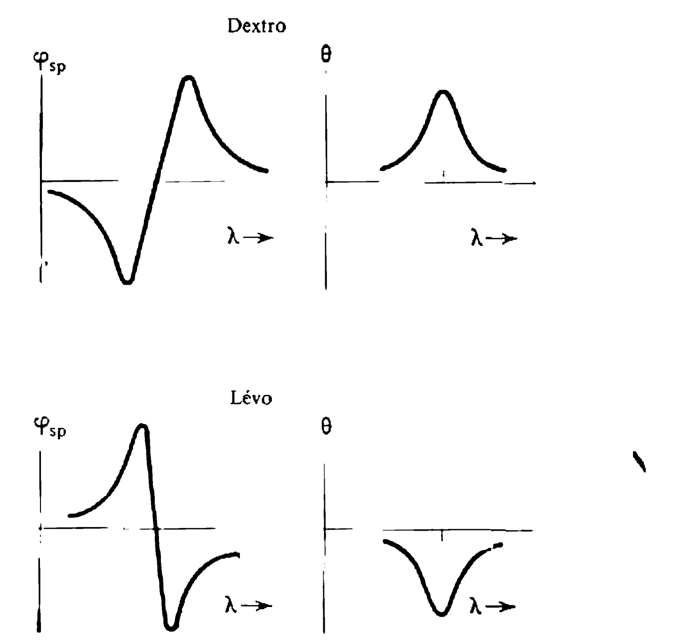


Fig. 5.15. Courbes de DARO et de DC. En haut les courbes pour un corps dextrogyre, en bas les courbes pour un corps lévogyre

bande d'absorption, l'expression complexe pour la polarisabilité, où le terme réel décrit la réfraction et le terme imaginaire l'absorption de la lumière.

Au voisinage de la bande d'absorption on observe une dispersion anomale de la rotation optique (DARO) et, simultanément, un dichroïsme circulaire (DC). Les courbes modèles pour un corps dextrogyre et un corps lévogyre sont représentées sur la figure 5.15. Les courbes correspondantes pour la réfraction et l'absorption sont analogues aux courbes de DARO et de DC pour le corps dextrogyre. Usuellement, on donne à la DARO le nom d'effet Cotton, bien que Cotton ait découvert précisément le DC.

La force rotationnelle R_j peut être déduite aussi bien de la DARO que du DC. Par conséquent, on peut passer d'un effet à l'autre par le calcul. C'est un cas particulier des *relations de Kronig-Kramers* qui lient les parties réelle et imaginaire de la réaction d'un système linéaire à une action extérieure. La déduction de la rotation à partir de l'ellipticité et inversement (ainsi que des cal-

culs analogues pour la réfraction et l'absorption) se font à l'aide des formules

$$\varphi(\omega) = \frac{2\omega^2}{\pi} \int_0^\infty \frac{\theta(\omega')}{\omega'(\omega'^2 - \omega^2)} d\omega', \tag{5.32}$$

$$\theta(\omega) = -\frac{2\omega^3}{\pi} \int_0^\infty \frac{\varphi(\omega')}{\omega'^2(\omega'^2 - \omega^2)} d\omega'. \tag{5.33}$$

Dans l'étude pratique des biopolymères pour déterminer R_j, il est plus commode d'utiliser le DC que la DARO. On peut démontrer que le rapport signal/bruit est beaucoup plus élevé dans le DC.

Les calculs théoriques de β sont approchés, car il est pratiquement impossible de connaître la totalité des niveaux énergétiques moléculaires et des fonctions d'onde correspondantes pour le calcul direct suivant la formule (5.27).

Il est possible de diviser mentalement la molécule en plusieurs groupements atomiques, entre lesquels il n'y a aucun échange d'électrons. Dans ce cas β sera représenté par la somme

$$\beta = \beta_1 + \beta_2 + \beta_3 + \beta_4, \tag{5.34}$$

où β_1 sont les contributions des groupements isolés, qui sont nulles si le groupement n'est pas chiral (le cas des groupes CH_3), β_2 les termes « monoélectroniques » qui résultent des transitions dipolaires électriques et magnétiques dans un groupement donné qui se trouve dans le champ asymétrique des autres groupements. Le terme β_3 est dû à l'interaction de $\boldsymbol{m}_{j0}$ d'un groupement avec $\boldsymbol{p}_{0j}$ d'un autre, β_4 est déterminé par l'excitation dipolaire électrique simultanée des différents groupements. Les contributions de β_2 et de β_4 sont les plus importantes. La contribution de β_4 résulte de l'interaction dipolaire électrostatique des groupements à polarisation anisotrope présents dans la molécule. La contribution en question est déterminée par les polarisabilités des groupements atomiques et dépend directement de leur disposition géométrique réciproque, c'est-à-dire de la configuration et de la conformation de la molécule ; elle s'annule en présence d'un plan ou d'un centre de symétrie.

Le modèle élémentaire de molécule chirale, proposé par Kuhn, est constitué par deux groupements linéaires, *1* et *2*, séparés par la distance r et polarisables uniquement le long de leurs axes qui forment entre eux l'angle γ (fig. 5.16). Dans ce cas

$$\beta_4 = {}^1/_6 a_1 a_2 \sin\gamma \cos\gamma / r^3, \tag{5.35}$$

où a_1 et a_2 sont les polarisabilités des groupements *1* et *2*. Comme nous l'avons vu (p. 161), la polarisabilité est déterminée par les valeurs de $\boldsymbol{p}_{0j}$, c'est-à-dire par les intensités des bandes d'absorption correspondantes. Plus une bande est intense, plus sa contribution à β_4 est élevée. Mais la force rotationnelle est déterminée par le produit $\boldsymbol{p}_{0j}\boldsymbol{m}_{j0}$. Si les valeurs de $\boldsymbol{p}_{0j}$ sont grandes, les valeurs de $\boldsymbol{m}_{j0}$ sont

généralement petites et inversement. Une bande faible à petit p_{0j}, mais à grand m_{j0} peut apporter une contribution considérable à l'activité optique. Or, β_4 ne tient aucunement compte du rôle des bandes faibles, leur effet sur la polarisabilité étant insignifiant.

Le *modèle monoélectronique* permet d'estimer de façon approchée la contribution de β_2. On utilise la formule (5.27), mais on ne considère que les électrons des groupements chromophores responsables de l'absorption ondes longues. Un groupement chromophore (telle la liaison peptidique —NH—CO—, etc.) est ordinairement plan et ne possède aucune activité optique. Mais, placé dans le champ asymétrique des atomes voisins d'une molécule chirale, ce groupement contribue à β_2. Le modèle monoélectronique fournit effectivement une bonne description de la dispersion de l'activité optique, surtout en ce qui concerne la DARO et le DC dans la bande d'absorption du chromophore. En partant de ce modèle on arrive à calculer, avec une bonne précision, les forces rotationnelles pour les transitions électroniques dans les groupements chromophores. Une variation de la conformation moléculaire se répercute sur β_2. La théorie a donné de bons résultats dans l'analyse conformationnelle des terpènes, des stéroïdes, etc.

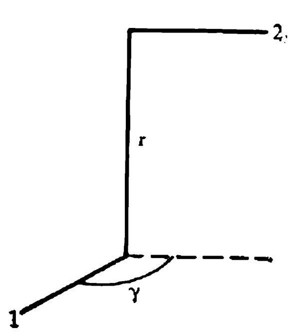


Fig. 5.16. Modèle élémentaire d'une molécule optiquement active (Kuhn)

Le développement actuel de la spectropolarimétrie est en rapport direct avec l'étude de la structure des composés naturels par la chimie bioorganique et la biologie moléculaire. L'évolution de la spectropolarimétrie a présenté trois étapes. Autrefois on ne caractérisait les molécules et les cristaux que par les valeurs de φ_{sp} pour une seule longueur d'onde. Ce procédé fournissait une information bien peu abondante. Ensuite on se tourna vers la mesure de la dispersion en dehors de la région d'absorption. Enfin, dernièrement on mesure l'effet Cotton (DARO) et le dichroïsme circulaire dans les bandes d'absorption des substances concernées. Cette technique est la plus riche en renseignements, mais elle exige des appareils très sensibles (mesure de la rotation à 10^{-4} degré près) et la possibilité d'opérer dans un large intervalle de longueurs d'onde (entre 180 et 230 nm pour les protéines).

§ 5.7. Activité optique naturelle des biopolymères

Dans le cas des polymères il est préférable d'exprimer la rotation optique et le dichroïsme circulaire par rapport au monomère. La rotation moyenne d'un monomère est définie comme

$$m' = \frac{M_0}{100}\varphi_{sp}, \qquad (5.36)$$

où M_0 est la masse moléculaire moyenne du monomère. Une prise en compte approximative de l'effet du solvant consiste à introduire la correction de Lorentz. On remplace m' par la rotation moyenne réduite du monomère:

$$\tilde{m}' = \frac{3}{n^2+2} m' = \frac{3}{n^2+2} \frac{M_0}{100} \varphi_{sp}, \quad (5.37)$$

où n est l'indice de réfraction du milieu. Pour l'eau à 20 °C le facteur de Lorentz $3/(n^2+2)$ varie entre 0,7945 (à 600 nm) et 0,7306 (à 185 nm).

La chiralité des biopolymères est parfois double: à celle des chaînons monomères vient s'ajouter la chiralité des hélices α des protéines et des polypeptides ou des portions en double hélice des acides nucléiques. Lors de la dénaturation (transitions hélice-pelote) la chiralité des monomères est la seule à subsister. Ces transitions s'accompagnent donc de variations brusques de la rotation et du DC. Ces caractéristiques sont très sensibles aux variations de conformation. La DARO et le DC fournissent des renseignements précieux sur les conformations des biopolymères et sur leurs variations.

Pour tout système moléculaire il est possible, lorsqu'on est loin de la région de l'absorption propre, d'exprimer la rotation réduite du monomère sous la forme de la somme des *formules* monomiales *de Drude* (cf. (5.27)):

$$\tilde{m}' = \sum_j \frac{a_j \lambda_j^2}{\lambda^2 - \lambda_j^2}. \quad (5.38)$$

Ici λ est la longueur d'onde de la lumière incidente, λ_j et a_j sont des constantes. L'équation (5.38) peut être remplacée, de façon approchée, par la formule monomiale

$$\tilde{m}' = \frac{a_0 \lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2}. \quad (5.39)$$

Cette formule décrit bien la rotation optique des polyaminoacides en pelote, lorsque $\lambda_0 = 268$ nm. Dans le cas d'une hélice α on peut se servir de la *formule de Moffitt*

$$\tilde{m}' = \frac{a_0^{(\alpha)} \lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + \frac{b_0^{(\alpha)} \lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2}, \quad (5.40)$$

où $a_0^{(\alpha)}$ et $b_0^{(\alpha)}$ sont des constantes. Le deuxième terme caractérise la contribution de la « seconde chiralité ». La formule (5.40) est considérée comme empirique. Elle est en accord avec l'expérience, pour une hélice α, lorsque $\lambda_0 = 212$ nm et $b_0^{(\alpha)} = -630$, $a_0^{(\alpha)} = \doteq 630$-650. Pour une protéine partiellement « en hélice »

$$a_0 = a_0^{(aa)} + x_\alpha a_0^{(\alpha)},$$

où $a_0^{(aa)}$ caractérise la rotation due aux résidus acides aminés, x_α est la proportion des résidus roulés en hélice. On a

$$\tilde{m}' = a_0^{(aa)} \frac{\lambda_1^2}{\lambda^2 - \lambda_1^2} + x_\alpha \left(a_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + b_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2} \right). \quad (5.41)$$

En développant le premier terme en série suivant $(\lambda^2 - \lambda_0^2)^{-1}$ et en se limitant au deuxième terme du développement, on obtient :

$$\tilde{m}' = a_0^{(aa)} \frac{\lambda_1^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + b_0^{(aa)} \frac{\lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2} + x_\alpha \left(a_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^2}{\lambda^2 - \lambda_0^2} + b_0^{(\alpha)} \frac{\lambda_0^4}{(\lambda^2 - \lambda_0^2)^2} \right). \quad (5.42)$$

Ordinairement, $b_0^{(aa)}$ est petit et se trouve dans les limites de ± 50. La quantité $a_0^{(aa)}$ est tirée des données relatives à la dispersion de la rotation pour les protéines dénaturées. Pour trouver x_α, on représente graphiquement $\tilde{m}'$ $(\lambda^2/\lambda_0^2 - 1)$ en fonction de $(\lambda^2/\lambda_0^2 - 1)^{-1}$. On obtient une droite à pente $x_\alpha b_0^{(\alpha)}$; le segment intercepté sur l'axe d'ordonnées est égal à $a_0{}^{(aa)} + x_\alpha a_0^{(\alpha)}$. La valeur de x_α est ainsi déterminée par deux procédés indépendants. Notons que la présence de résidus aromatiques influe considérablement sur les valeurs des constantes dans l'équation de Moffitt. Le taux d'hélices x_α, déterminé par cette technique pour une série de protéines, est en bon accord avec les résultats d'autres déterminations polarimétriques (avec les formules de Drude, monomiale ou binomiale). La radiocristallographie confirme également les valeurs trouvées.

La théorie quantique rigoureuse de l'activité optique des homopolymères considère la scission résonnante des niveaux d'énergie électroniques des monomères dans une zone : la décomposition excitonique (v. p. 152). Le calcul des forces rotationnelles est différent suivant que la transition $0 \to j$ concernée est optiquement « forte » ($\boldsymbol{p}_{0j}$ grand, mais $\boldsymbol{m}_{j0}$ petit) ou « faible » ($\boldsymbol{p}_{0j}$ petit, $\boldsymbol{m}_{j0}$ grand). Dans le cas des transitions « fortes » il est possible de dégager la contribution excitonique conditionnée par l'interaction des niveaux excités dans des monomères différents. La somme des forces rotationnelles excitoniques de tous les monomères est nulle : ces contributions sont « conservatives ». Les contributions non excitoniques déterminées par l'interaction du niveau j avec les autres niveaux, sur lesquels les transitions sont permises, ne satisfont pas à la condition de conservation. La figure 5.17 représente les courbes typiques de DARO et de DC des interactions excitonique et non excitonique pour une contribution conservative et une contribution non conservative. Dans le cas de l'hélice α les contributions non excitoniques sont de loin inférieures aux contributions excitoniques : la courbe théorique de DC pour une hélice α longue de 20 unités possède trois extrémums dans la région des transitions $\pi\pi^*$ (v. p. 151) avec les contributions

excitoniques à R (en 10^{-40} erg·cm³), égales à —221, 321, —100 (leur somme est nulle) et les contributions non excitoniques correspondantes 3,8, —8,6 et —17,1.

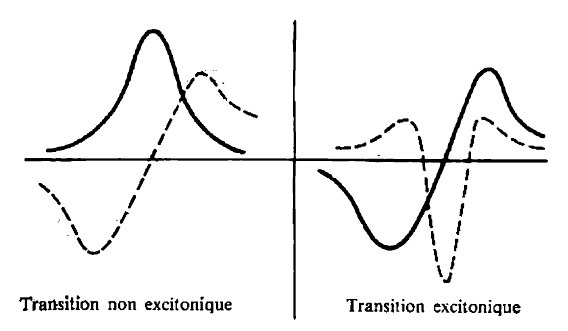


Fig. 5.17. Courbes de DARO (traits continus) et de DC (traits interrompus) pour les contributions excitonique et non excitonique

L'autre forme régulière de la chaîne polypeptidique — la forme β — est également décrite, en principe, par la formule de Moffitt, mais la valeur de b_0 est alors petite. L'expérience et le calcul donnent

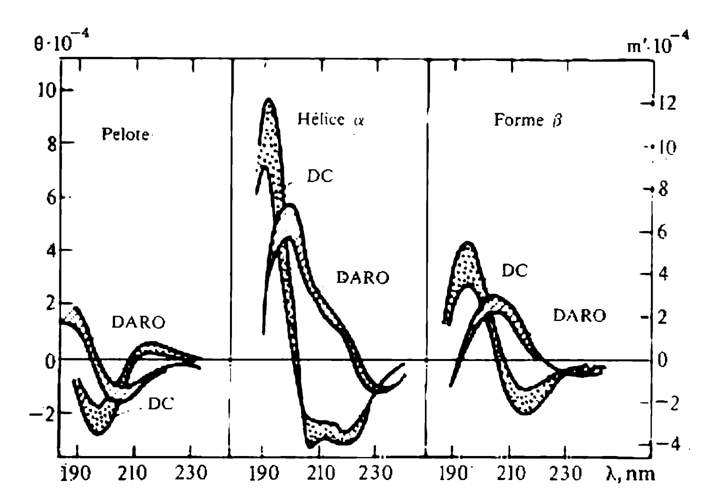


Fig. 5.18. Graphiques de DARO et de DC pour trois conformations différente des L-polypeptides

$b_0^{(\beta)}$ = —30. Une analyse détaillée du DC dans la région de la transition ππ* montre que c'est la contribution non excitonique qui prédomine chez les formes β parallèle et antiparallèle. On trouvera sur la figure 5.18 les courbes de DARO et de DC pour les différentes conformations des L-polypeptides.

Pour pouvoir comprendre l'activité optique des acides nucléiques, il est indispensable de considérer le phénomène d'*activité optique induite* (AOI). Les molécules symétriques (non chirales) des colorants, fixées sur les polypeptides à hélices α, mettent en évidence la DARO et le DC dans la région de l'absorption propre. Cet effet disparaît, lorsque le complexe colorant-hélice α est dénaturé. L'effet s'explique par l'interaction de la molécule de colorant avec le résidu peptidique à proximité du centre asymétrique. Le même témoignage est fourni par l'AOI des groupements prosthétiques et des coenzymes. La DARO et le DC dans la région d'absorption du *pyridoxalphosphate*, coenzyme de l'*aspartate-aminotransférase* (p. 197), ont servi de source

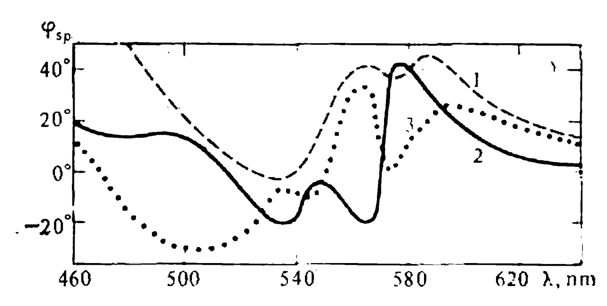


Fig. 5.19. Courbes de DARO pour la déoxyhémoglobine (1), l'oxyhémoglobine (2) et la carboxyhémoglobine (3)

d'information sur la structure du centre actif de cet enzyme. On peut voir sur la figure 5.19 les courbes de DARO de la déoxyhémoglobine, de l'oxyhémoglobine et de la carboxyhémoglobine dans les régions d'absorption du groupement prosthétique hème qui est symétrique pris isolément (v. p. 50). Sous l'effet de la chiralité du biopolymère la couche électronique du chromophore devient optiquement asymétrique. La théorie stricte de l'AOI impose la prise en considération des oscillations des noyaux atomiques et la résolution du problème des vibrations électroniques.

L'activité optique des nucléosides, nucléotides, ADN et ARN est caractérisée par la DARO et le DC dans les régions d'absorption autour de 260 nm : les bandes d'absorption des bases azotées. Ces bases étant planes et dépourvues de chiralité, la DARO et le DC résultent de la fixation des bases sur les sucres chirals. Ces effets sont donc dus à l'activité optique induite. Par conséquent, le remplacement du β-ribose et du β-désoxyribose par les composés α correspondants change le signe de l'effet.

La force rotationnelle R_j (5.28) est une grandeur tensorielle et non pas scalaire : ses valeurs varient suivant les directions dans la molécule. Dans un liquide aux conditions normales on mesure sa moyenne prise sur toutes les directions. Plus récemment on a mesuré

les valeurs anisotropes de R_j pour les complexes ADN-colorants et ADN-antibiotiques. La méthode consiste à orienter les molécules d'ADN dans un courant traversant une cellule optique constituée par un ensemble de tubes capillaires. Le DC est mesuré deux fois: en l'absence d'orientation, lorsque

$$\Delta\varepsilon = {}^1/_3\,(\Delta\varepsilon_\parallel + 2\Delta\varepsilon_\perp), \qquad (5.43)$$

et pour les molécules d'ADN orientées, lorsque

$$\Delta\varepsilon_{or} = (1 - q)\,\Delta\varepsilon + q\,\Delta\varepsilon_\parallel. \qquad (5.44)$$

Ici $\Delta\varepsilon$ et $\Delta\varepsilon_{or}$ sont les amplitudes mesurées du DC, $\Delta\varepsilon_\parallel$ et $\Delta\varepsilon_\perp$ les valeurs du DC le long et en travers de l'axe de la double hélice, q est le degré d'orientation déduit du dichroïsme linéaire de l'ADN. Les courbes de la figure 5.20 correspondent à $\Delta\varepsilon_\parallel$ et $\Delta\varepsilon_\perp$ pour le complexe ADN-proflavine. Notons que ces quantités ont les signes contraires: la valeur mesurée de $\Delta\varepsilon$ est donc une petite différence de deux quantités importantes. L'étude de l'anisotropie de la force rotationnelle fournit une information précieuse sur la structure des biopolymères et de leurs complexes.

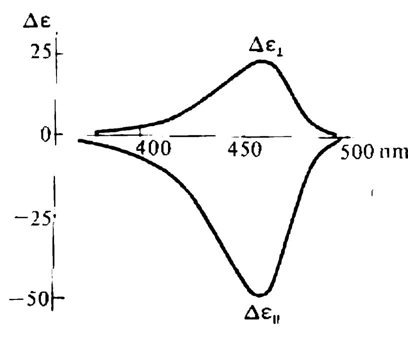


Fig. 5.20. Courbes $\Delta\varepsilon_\parallel$ et $\Delta\varepsilon_\perp$ pour le complexe ADN-proflavine

Les conditions de symétrie sont particulières dans un système orienté: là l'activité optique peut être le fait de molécules possédant un plan de symétrie, mais privées de centre de symétrie. Cette *activité optique « latente »* qui ne se manifeste que lors de l'orientation, a été découverte au cours d'une étude des complexes d'ADN et d'ARN (Makarov et Polétaev). Il est établi que les molécules de colorant y sont perpendiculaires à l'axe de la double hélice de l'acide nucléique.

§ 5.8. Activité optique magnétique

En 1845 Faraday écrit dans son journal: « ... j'ai réussi finalement à aimanter et à électriser le rayon de la lumière et à éclairer la ligne de force magnétique ». Il s'agissait de la découverte de la rotation magnétique du plan de polarisation de la lumière se propageant dans la direction du champ magnétique. Ce phénomène fut appelé *effet Faraday*. L'énoncé ci-dessus n'a qu'un sens figuré: le champ magnétique n'agit pas sur la lumière, mais sur la substance, en lui conférant une biréfringence circulaire. Tout récemment l'effet Faraday —

la *rotation optique magnétique* (ROM) et le *dichroïsme circulaire magnétique* (DCM) — ont trouvé des applications importantes dans la biophysique moléculaire.

L'angle de rotation φ, exprimé par la formule (5.14), est proportionnel à l'intensité du champ magnétique H (*formule de Becquerel*) :

$$\varphi = \frac{\pi}{\lambda}(n_L - n_D)\, l = \mathcal{V} lH. \tag{5.45}$$

$\mathcal{V}$ étant la constante de rotation magnétique (*constante de Verdet*). La théorie électronique classique ramène l'effet Faraday à l'*effet Zeeman*. L'électron, considéré en tant qu'un oscillateur harmonique, oscille en l'absence de champ magnétique avec la fréquence circulaire ω_0. Dans un champ magnétique orienté le long du rayon lumineux, la raie spectrale de fréquence ω_0 se décompose en deux raies à polarisation circulaire gauche et droite. Cette décomposition s'écrit $2\,|\,\omega_H\,|$, où ω_H est la fréquence circulaire de la *précession de Larmor* :

$$\omega_H = -\frac{eH}{2m_ec} \tag{5.46}$$

(e et m_e sont la charge et la masse de l'électron, c la vitesse de la lumière).

La biréfringence circulaire est donnée par

$$\Delta n = n_L - n_D = \left(\frac{\partial n}{\partial \omega}\right)_{H=0} \cdot 2\,|\,\omega_H\,| = \frac{eH}{m_ec}\left(\frac{\partial n}{\partial \omega}\right)_{H=0} \tag{5.47}$$

ou bien

$$\Delta n = \lambda^2 \left(\frac{\partial n}{\partial \lambda}\right)_{H=0} \frac{eH}{2\pi m_ec^2}, \tag{5.48}$$

où λ est la longueur d'onde de la lumière. Par conséquent,

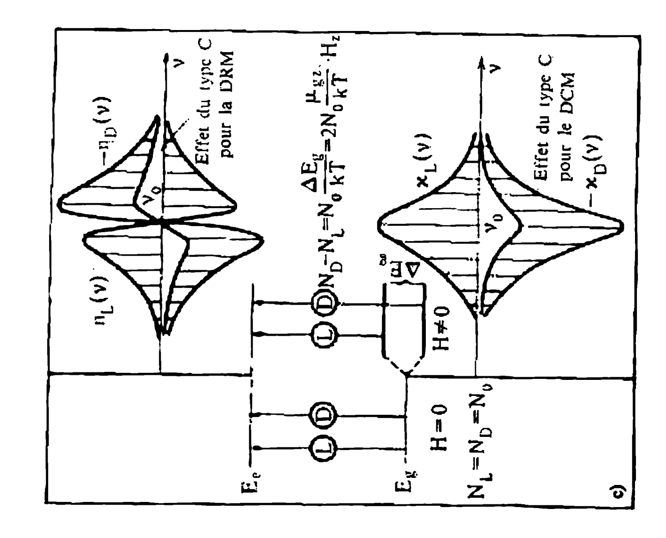
$$\varphi = \frac{eH}{2m_ec^2}\lambda \left(\frac{\partial n}{\partial \lambda}\right)_{H=0} \cdot l \tag{5.49}$$

et

$$\mathcal{V} = \frac{e\lambda}{2m_ec^2}\left(\frac{\partial n}{\partial \lambda}\right)_{H=0}. \tag{5.50}$$

Nous avons obtenu la formule de Becquerel (5.45). Elle retrouve approximativement l'expérience dans une région éloignée des bandes d'absorption : celle des corps diamagnétiques.

La vraie théorie de l'effet ne peut être que quantique. L'influence du champ magnétique est à l'origine de plusieurs phénomènes. D'abord, il y a dédoublement du niveau énergétique fondamental du système électronique : à la place de ω_0 on a $\omega_L = \omega_0 - \gamma_0 H$ et $\omega_D = \omega_0 + \gamma_0 H$, où $\gamma_0 = \omega_H/H$. Ensuite, les ndes droite et gauche



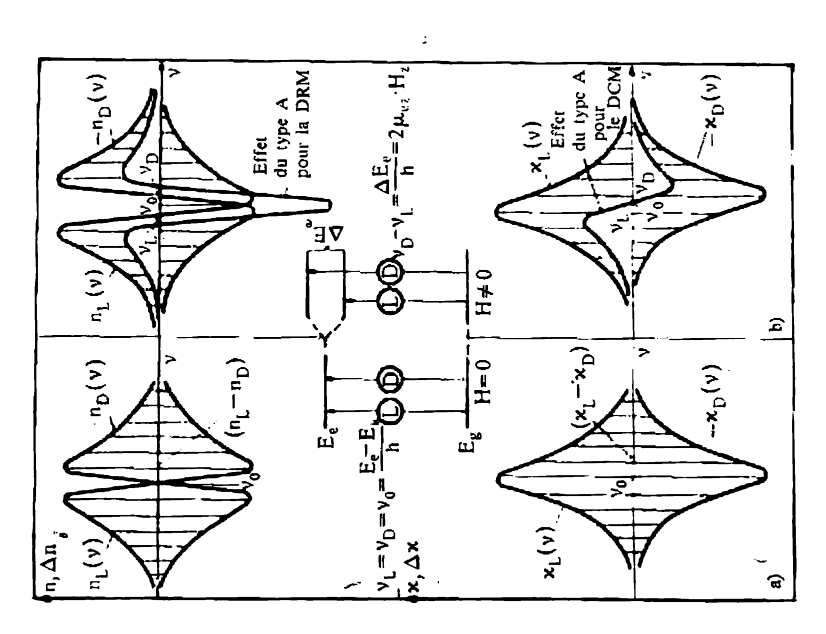


Fig. 5.21. Diagramme illustrant l'origine de la rotation optique magnétique (ROM) et du dichroïsme circulaire magnétique (DCM) :

a) absence de champ, *b*) effet du type *A*, *c*) effet du type *C*

se caractérisent par des probabilités de transition différentes (coefficients d'absorption) $\varepsilon_L = \varepsilon(1 + bH)$ et $\varepsilon_D = \varepsilon(1 - bH)$. Enfin, les niveaux excités se scindent également : $\omega_L = \omega_0 - \gamma_e H$, $\omega_D = \omega_0 + \gamma_e H$. Lorsque les molécules sont paramagnétiques, le champ H fait varier les populations des sous-niveaux du niveau fondamental, la différence de populations donnant les facteurs 1 et $1 - 2\gamma_0 H/kT$. On obtient ($f\{x\}$ est une fonction de x)

$$\begin{aligned} \varepsilon_L &= \varepsilon(1 + bH)\, f\{\omega - (\gamma_0 + \gamma_e) H\}, \\ \varepsilon_D &= \varepsilon(1 - bH)\, f\{\omega + (\gamma_0 + \gamma_e) H\}(1 - 2\gamma_0 H/kT) \end{aligned} \qquad (5.51)$$

et, en développant $\Delta\varepsilon$ en série suivant H et en se limitant aux termes linéaires, on trouve

$$\Delta\varepsilon = 2\varepsilon H \left\{ -(\gamma_0 + \gamma_e) \frac{df(\omega)}{d\omega} + \left(b + \frac{\gamma_0}{kT} \right) f(\omega) \right\} = \\ = A_0 + A_e + B + C/kT. \qquad (5.52)$$

La figure 5.21 illustre l'apparition de la ROM et du DCM. En l'absence de champ magnétique (fig. 5.21, *a*) il y a deux transitions électroniques du niveau fondamental non dégénéré E_0 sur le niveau excité E_e, doublement dégénéré. Les fréquences des transitions pour les ondes droite et gauche coïncident, ainsi que les indices de réfraction et d'absorption correspondants, et $n_L(\omega) = n_D(\omega)$, $\varepsilon_L(\omega) = \varepsilon_D(\omega)$. (Par souci de commodité les courbes $n_D(\omega)$ et $\varepsilon_D(\omega)$ sont représentées avec le signe inverse.) La figure 5.21, *b* explique l'origine de l'effet du type A_e qui résulte du dédoublement du niveau excité E_e. Les courbes $n_L(\omega)$ et $n_D(\omega)$ (et, respectivement, $\varepsilon_L(\omega)$ et $\varepsilon_D(\omega)$) se déplacent de façon symétrique, donnant une courbe symétrique $\Delta n(\omega)$ dans la ROM et une courbe asymétrique $\Delta\varepsilon(\omega)$ dans le DCM. Enfin, l'effet du type C (fig. 5.21, *c*) résulte de la dégénérescence de l'état fondamental E_0, de la levée de la dégénérescence par le champ magnétique et de l'apparition d'une différence entre les populations des sous-niveaux en conformité avec la loi de Boltzmann. Les effets du type C sont asymétriques dans la ROM et symétriques dans le DCM.

La théorie quantomécanique rigoureuse donne, dans la région d'absorption propre, la rotation spécifique

$$\varphi(0 \to j) = -\frac{4\pi N_1}{\hbar c} \left\{ -\frac{2\omega_j \omega^2 [(\omega_j^2 - \omega^2)^2 - \omega^2 \Gamma_j^2]}{\hbar [(\omega_j^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \Gamma_j^2]^2} A_j + \\ + \frac{\omega^2 (\omega_j^2 - \omega^2)}{(\omega_j^2 - \omega^2)^2 + \omega^2 \Gamma_j^2} (B_j + C_j/kT) \right\} H, \qquad (5.53)$$

où $\omega_j \equiv \omega_{0j}$, N_1 est le nombre de molécules dans l'unité de volume et (pour un milieu isotrope)

$$A_j = {}^1/_6\,(m_{jj} - m_{00})\,\mathrm{Im}\,(p_{0j}p_{j0}),$$
$$B_j = {}^1/_3\,\mathrm{Im}\left\{\sum_{k\neq 0}\frac{m_{k0}}{\hbar\omega_{k0}}\,p_{0j}p_{jk} + \sum_{k\neq j}\frac{m_{j0}}{\hbar\omega_{kj}}\,p_{0j}p_{k0}\right\}, \qquad (5.54)$$
$$C_j = {}^1/_6\, m_{00}\,\mathrm{Im}\,(p_{0j}p_{j0}).$$

La formule (5.53) se transforme en expression pour la contribution de la transition $0 \to j$ à la rotation pour les régions éloignées de celle d'absorption, si l'on y pose $\Gamma_j = 0$. Le DCM est décrit par l'ellipticité spécifique

$$\theta(0 \to j) = -\frac{4\pi N_1}{\hbar c}\left\{\frac{4\omega_j\omega^3(\omega_j^2-\omega^2)^2\,\Gamma_j}{\hbar\,[(\omega_j^2-\omega^2)^2+\omega^2\Gamma_j^2]}\,A_j + \right.$$
$$\left. + \frac{\omega^3\Gamma_j}{(\omega_j^2-\omega^2)^2+\omega^2\Gamma_j^2}\,(B_j + C_j/kT)\right\} H. \qquad (5.55)$$

L'effet Faraday n'a rien à voir avec l'activité optique naturelle: on l'observe dans les corps constitués aussi bien de molécules chirales que de molécules non chirales. Lorsque le rayon de la lumière, réfléchi par un miroir, passe une deuxième fois à travers un corps optiquement actif, la rotation se trouve compensée et disparaît, alors que l'effet Faraday se voit doubler.

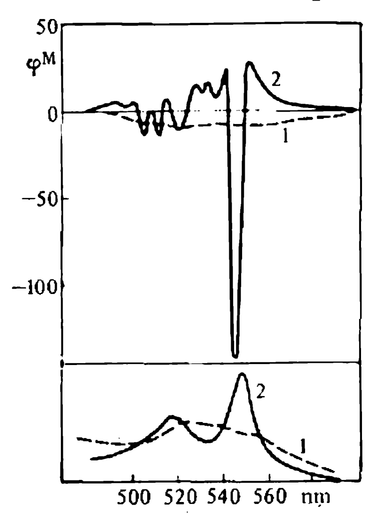


Fig. 5.22. Courbes de DARM et spectres d'absorption du cytochrome *c* oxydé (*1*) et réduit (*2*)

L'observation expérimentale de la dispersion anomale de la rotation magnétique (DARM) et du DCM est facile dans le cas des systèmes ayant une rotation magnétique forte et une absorption relativement faible. C'est particulièrement le cas des composés porphyriques: hémoprotéines, chlorophylle, etc. L'effet est proportionnel à H, voilà pourquoi il est surtout important dans les champs magnétiques de l'ordre de 50 000 Gs ou plus, créés à l'aide de supraconducteurs. Dans les conditions ordinaires on n'arrive à obtenir que des champs de 20 000 à 30 000 Gs.

Les valeurs relatives du DCM des différents composés organiques sont approximativement les suivantes: 100 pour les porphyrines, 3 pour les annulènes, 0,2 pour les purines, 0,00002 pour la cyclohexanone. Dans le cas des hémoprotéines l'effet Faraday dépend pour beaucoup des états électroniques de l'hème et des conformations de la protéine. On a représenté sur la figure 5.22 les courbes de

DARM et les spectres d'absorption du cytochrome *c* natif oxydé (ferri) et réduit (ferro). On y voit bien la structure fine du ROM du ferricytochrome *c*, absente dans le spectre d'absorption. La haute sensibilité de la DARM et du DCM permet d'étudier des cytochromes différents dans les suspensions de particules submitochondriales (v. § 13.2). Les spectres d'absorption ne fournissent pas cette possibilité (Charonov).

On trouvera au § 6.7 quelques applications de l'effet Faraday à l'étude de l'hémoglobine et de la myoglobine.

§ 5.9. Spectres de vibration

Les fréquences, les intensités et les polarisations des raies et des bandes dans les spectres de vibrations renseignent sur la structure moléculaire. Les spectres de vibration sont observés soit pour l'absorption en infrarouge (IR), soit pour la diffusion Raman. L'effet Raman fut découvert en 1928 (Raman, Mandelstam et Landsberg). La possibilité d'étudier les vibrations moléculaires par spectroscopie en visible semblait prometteuse, mais, initialement, les spectres Raman ne purent être appliqués aux polymères et aux biopolymères vu l'impossibilité d'obtenir des solutions optiquement pures, sans diffusion parasite. Pendant des années les spectres de vibration des biopolymères n'ont été étudiés qu'en tant que spectres d'absorption infrarouge; la spectroscopie Raman n'a commencé à se substituer à la spectroscopie IR que tout récemment, grâce aux progrès des lasers.

La théorie des spectres de vibration des molécules est élaborée en détail (Volkenstein, Eliachévitch, Stépanov, Gribov). Elle est fondée sur la possibilité de considérer séparément les vibrations lentes des noyaux atomiques et les transitions électroniques rapides, possibilité qui découle du *théorème de Born et Oppenheimer*. Le problème des fréquences des vibrations nucléaires est classique. On le résout en tenant directement compte de la symétrie moléculaire. La théorie des intensités et des polarisations dans les spectres IR et Raman part du *schéma optico-valentiel*, selon lequel il est possible d'attribuer à chaque liaison covalente son propre moment dipolaire et sa propre polarisabilité. Le moment dipolaire de la molécule est la somme vectorielle des moments dipolaires des liaisons et la polarisabilité de la molécule est la somme tensorielle des polarisabilités des liaisons. L'intensité d'une bande IR dépend de la variation du moment dipolaire de la molécule pour la vibration normale donnée; celle d'une bande Raman varie en fonction de la polarisabilité.

Une molécule constituée de N atomes possède $3N - 6$ vibrations normales ($3N - 5$ pour une molécule linéaire). Les atomes d'une molécule participent tous à chacune de ces vibrations, étant liés entre eux. Des situations sont possibles, où la participation d'une

liaison covalente, d'un atome ou d'un groupement d'atomes à une vibration donnée est beaucoup plus importante que celle des autres liaisons et atomes. On dit qu'une telle vibration est *caractéristique* du groupement d'atomes considéré, sa fréquence et l'intensité de la bande IR ou de la raie Raman dépendent peu des autres atomes de la molécule. Ainsi, la présence d'une bande ou d'une raie spectrale caractéristique témoigne de la présence du groupement correspondant dans la molécule.

Les spectres IR des protéines et des polypeptides présentent les bandes du groupe amide, c'est-à-dire de la liaison peptide —CO—NH—. L'étude des amides bas-moléculaires, tels le méthylacétamide H_3C—CO—NH—CH_3 et les composés apparentés, associée au calcul théorique, a permis d'obtenir les caractéristiques des vibrations du groupe amide (Tableau 5.2).

Tableau 5.2

Caractéristiques des vibrations des groupes amide

Bande	Fréquence, cm^{-1}	Nature de la vibration	Taux de participation des groupes, en fractions d'unité
Amide A	3 300	N—H (ν)	
Amide B	3 100	N—H (ν)	
Amide I	1597 à 1672	C=O (ν)	C=O (ν) 0,8, C—N (ν) 0,1, —NH (δ) 0,1.
Amide II	1480 à 1575	—NH (δ) dans le plan, C—N (ν)	—NH (δ) 0,6, C—N (ν) 0,4.
Amide III	1229 à 1301	C—N (ν), —NH (δ) dans le plan	C=O (ν) 0,1, C—N (ν) 0,3, N—H (ν) 0,3, O=C—N (δ) 0,1
Amide IV	625 à 767	O=C—N (δ) dans le plan	O=C—N (δ) 0,4, les autres 0,6
Amide V	640 à 800	—NH (δ), vibration non plane	
Amide VI	537 à 606	—CO (δ), vibration non plane	
Amide VII	200	Vibration de torsion autour de la liaison C—N	

ν désigne une *vibration de valence* (allongement de liaisons),
δ désigne une *vibration de déformation* (changement de l'angle de valence).

Les formes des vibrations énumérées sont représentées sur la figure 5.23. Les bandes IR A, B, I et II sont sensibles aux liaisons hydrogène, dont la présence provoque une réduction considérable des fréquences et un élargissement des bandes.

En examinant les spectres des polymères il faut tenir compte de l'interaction des vibrations dans les monomères. Un polymère ordonné est similaire dans ce sens à un cristal moléculaire, dont le spectre ne présente que les vibrations qui se produisent en phase dans toutes

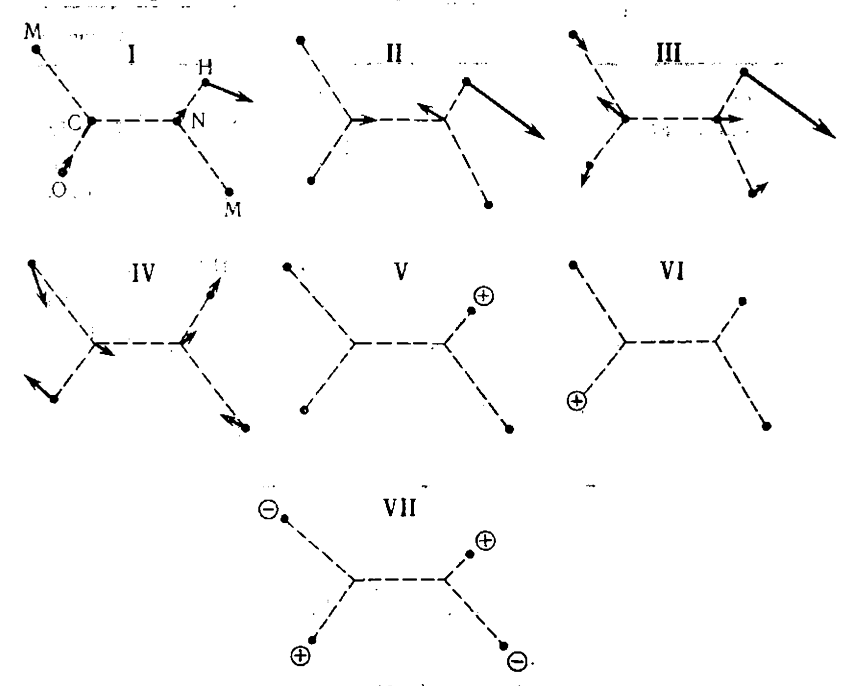


Fig. 5.23. Formes des vibrations normales du groupe amide dans le N-méthylacétamide (M — groupe méthyle)

les mailles élémentaires. Les bandes du groupe amide (en particulier, amide I et amide II) s'avèrent caractéristiques pour l'hélice α, la forme β et la forme non ordonnée de la chaîne polypeptidique. Cela est montré dans le tableau 5.3.

Les spectres des solutions ou des films non orientés ne renseignent pas sur la polarisation des vibrations. Par contre, lorsqu'on étudie des protéines ou des polypeptides en milieu anisotrope (fibres et films orientés) à l'aide d'un rayonnement IR polarisé, la polarisation des vibrations est observée de façon directe. On mesure le *dichroïsme* infrarouge caractérisé par le rapport des coefficients d'absorption mesurés pour le rayonnement, dont le vecteur électrique d'onde lumineuse est parallèle et perpendiculaire à la direction choisie.

Les spectres IR sont donc applicables à la détermination de la structure secondaire des protéines, à l'étude de l'ionisation des résidus

Tableau 5.3

Caractéristiques des bandes de l'amide I et de l'amide II

Conformation	Désignation des vibrations	Fréquence, cm⁻¹ amide I	Fréquence, cm⁻¹ amide II
Non ordonnée	ν_0	1658	1520
Forme β antiparallèle	$\nu_{\parallel}$	1658 (fb)	1530 (fr)
	$\nu_{\perp}$	1632 (fr)	1510 (fb)
	$\nu_{\perp}$	1668 (tr. fb)	1550 (fb)
Forme β parallèle	$\nu_{\parallel}$	1648 (fb)	1530 (fr)
	$\nu_{\perp}$	1632 (tr. fb)	1530 (fb)
Hélice α	$\nu_{\parallel}$	1650 (fr)	1516 (fb)
	$\nu_{\perp}$	1646 (fb)	1546 (fr)

fr — forte, fb — faible, tr. fb — très faible (pour les bandes IR), ∥ et ⊥ sont les bandes qui correspondent aux vibrations du moment dipolaire, parallèles et perpendiculaires à la chaîne polymérique.

acides aminés et, ce qui est particulièrement important, à l'étude de la cinétique de l'*échange de deutérons*.

La spectroscopie IR des acides nucléiques fournit peu d'informations et n'est pratiquement pas utilisée.

Ces derniers temps la physique des protéines s'intéresse de moins en moins à la spectroscopie IR. D'autres méthodes (avant tout le dichroïsme circulaire) se révèlent plus efficaces en ce qui concerne la détermination de la structure secondaire. Par contre, la spectroscopie laser utilisant l'effet Raman fournit une information très détaillée sur la structure des protéines et d'autres substances biologiquement fonctionnelles. On obtient de très bons spectres Raman des solutions, des substances cristallines et amorphes, ainsi que des corps en phase gazeuse. C'est la *diffusion Raman de résonance* (DRR) qui donne les meilleurs résultats. Dans ce cas la longueur d'onde du rayonnement laser diffusé est située dans la région d'absorption propre du chromophore de la molécule biologique. Les intensités de la DRR sont très élevées, ce qui permet d'étudier les biomolécules même à de très faibles concentrations. On a étudié par cette technique des hémoprotéines, la chlorophylle, des complexes enzyme-substrat, etc.

Si la molécule concernée ne renferme pas de chromophore, indispensable pour l'observation en DRR, on peut en introduire un en qualité de marqueur par fixation chimique ou non chimique.

§ 5.10. Spectres de résonance magnétique nucléaire et de résonance paramagnétique électronique

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) et de résonance paramagnétique électronique (RPE) sont largement utilisés en biophysique.

Exposons le principe de la résonance paramagnétique.

Soit une particule à moment magnétique μ placée dans un champ magnétique permanent d'intensité H_0. Le moment magnétique effectue un mouvement de précession autour de la direction du champ (fig. 5.24, *a*) avec une fréquence proportionnelle à H_0 (cf. (5.46)):

$$\omega_0 = \gamma H_0 = \frac{\mu}{p} H_0, \tag{5.56}$$

où p est le moment cinétique de la particule (le spin de l'électron, par exemple). Soumettons la particule en précession à l'action d'un faible champ variable H_1, perpendiculaire à H_0. Le champ H_1 polarisé rectilignement peut être décomposé en deux composantes circulaires (p. 159). Une de ces composantes coïncide en direction avec la précession. Si la fréquence des vibrations H_1 coïncide avec ω_0, il apparaît une résonance, une absorption forte de l'onde H_1. Zavoïski a découvert ce phénomène en 1945.

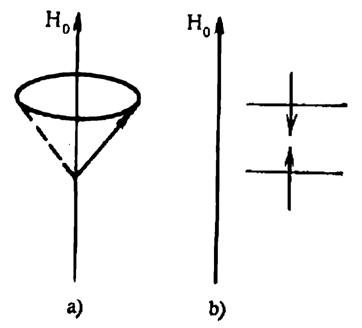


Fig. 5.24. Schéma de la résonance paramagnétique: *a*) classique, *b*) modèle quantomécanique

Telle est la description classique élémentaire de l'effet. La mécanique quantique montre que les niveaux énergétiques d'une particule possédant un moment magnétique éclatent dans un champ magnétique. Commençons par la RMN. Les noyaux atomiques, dont au moins un des deux nombres (la masse ou le numéro d'ordre) est impair, possèdent un spin nucléaire et, par conséquent, un moment magnétique nucléaire. Le spin nucléaire est nul pour ^{12}C, ^{16}O, etc., et n'est pas nul pour H, D, ^{13}C, ^{19}F, etc.

Si J est le nombre nucléaire de spin, le moment magnétique correspondant s'écrit $[J(J+1)]^{1/2}\gamma\hbar$, où $\gamma\hbar = g\mu_0$ est le *rapport gyromagnétique*, g le *facteur de décomposition* et μ_0 le *magnéton nucléaire*. Lorsqu'on applique un champ magnétique H_0, la décomposition Zeeman (v. p. 171) conduit à l'apparition de $2J+1$ niveaux avec les énergies

$$E = -\gamma\hbar H_0 m \quad (m = J,\ J-1,\ \ldots,\ -J). \tag{5.57}$$

La distance entre les niveaux voisins vaut $\gamma H_0\hbar$. Pour le proton $J = 1/2$, ce qui donne, en champ H_0, deux niveaux qui correspondent

aux orientations parallèle et antiparallèle du spin (fig. 5.24, *b*). La résonance se produit, lorsque

$$\hbar\omega_0 = \gamma\hbar H_0 = g\mu_0 H_0, \qquad (5.58)$$

où

$$\mu_0 = \frac{e\hbar}{2m_p c} = 5{,}05\cdot 10^{-24} \text{ erg/Gs}, \qquad (5.59)$$

e est la charge du proton, m_p sa masse. Pour le proton, le facteur g vaut 5,58. Si $H_0 = 10\,000$ Gs, la fréquence de résonance pour les protons est égale à 42,6 MHz (gamme des ondes métriques).

A une température donnée T, les protons du niveau inférieur sont quelque peu plus nombreux que ceux du niveau supérieur. Le rapport des populations des niveaux supérieur et inférieur à l'équilibre est exprimé par le facteur de Boltzmann (v. p. 172)

$$\exp(-\hbar\omega_0/kT) = \exp(-g\mu_0 H_0/kT) \approx 1 - g\mu_0 H_0/kT. \qquad (5.60)$$

L'exponentielle est remplacée par deux premiers termes du développement en série, car $g\mu_0 H_0 \ll kT$ pour les valeurs ordinaires de H_0 et $T = 300$ K. Lorsque $H_0 = 10^4$ Gs, le facteur de Boltzmann est égal à 1 à $14\cdot 10^{-6}$.

L'application d'un champ de radiofréquences H_1 provoque des transitions du niveau inférieur sur le niveau supérieur (absorption) et dans le sens inverse (émission). Si les probabilités des deux processus étaient identiques, il devrait y avoir une saturation rapide des niveaux: leurs populations deviendraient égales et l'absorption cesserait. Mais cela ne se produit pas, car les spins nucléaires sont capables de céder leur énergie sans rayonner. Il y a lieu un processus de relaxation responsable du retour incessant du système de spins à l'état d'équilibre auquel correspond la distribution de Boltzmann. Cette relaxation résulte de l'interaction des spins nucléaires avec le *réseau*, i.e. avec les autres noyaux qui sont à l'état d'agitation thermique. Une fois le champ H_1 supprimé, l'énergie qui se dégage se transforme en énergie thermique du réseau. La variation de la population des niveaux après la coupure du champ H_1 est décrite par l'équation

$$\Delta n(t) = \Delta n(0) \exp(-t/T_1), \qquad (5.61)$$

où $\Delta n(t)$ est l'excès de protons à l'instant t sur le niveau supérieur par rapport à la population équilibrée; $\Delta n(0)$ la même chose pour l'instant où le champ est coupé $t = 0$; T_1 le *temps de relaxation spin-réseau*. Le temps T_1 dépend de la teneur du corps en noyaux magnétiques, de la mobilité des molécules et de la température. T_1 est de l'ordre de plusieurs minutes dans les cristaux et de quelques secondes (ou moins) dans les gaz et les liquides. En présence d'impuretés paramagnétiques le temps T_1 peut se réduire à 10^{-4} s. Une raie RMN est d'autant plus large que la durée de vie du noyau sur le

niveau énergétique donné est moins importante. La relaxation spin-réseau apporte sa contribution à la largeur de la raie, qui est de l'ordre de T_1^{-1}.

Il y a également un second processus: l'*interaction spin-spin* des noyaux magnétiques. Outre le champ H_0, chaque spin est soumis à un champ local créé par les noyaux voisins et égal à

$$H_{loc} = \frac{\mu}{r^3}(3\cos^2\theta - 1), \tag{5.62}$$

où r est la distance du noyau au point donné et θ l'angle entre μ et r. La condition de résonance prend donc la forme

$$\omega_0 = \gamma (H_0 + H_{loc}) \tag{5.63}$$

et non (5.56), valable pour le spin isolé. La valeur de H_{loc} est de l'ordre de quelques gauss. L'interaction spin-spin contribue également à la largeur de la raie par suite de l'hétérogénéité du champ et de l'échange d'énergie entre protons dû à cette interaction. Dans les solides le *temps de relaxation spin-spin* T_2 est de loin inférieur à T_1 et la largeur de la raie ne dépend que de T_2. Dans les liquides non visqueux T_2 est de l'ordre de T_1, la largeur de la raie constituant des fractions d'hertz.

Les spectres RMN des liquides et des solutions comportent des raies relativement étroites qui correspondent à des protons de structure non équivalente. Ainsi, dans le spectre du trichloro-1,1,2 éthane $ClH_2C{-}CHCl_2$ on observe, avec une faible résolution, deux raies correspondant aux protons des groupes CH_2 et CH, dont les intensités sont dans le rapport de 2 à 1. Cela est dû à l'effet d'écran que l'entourage électronique du noyau exerce sur son spin. Les électrons effectuent un mouvement de précession dans le sens opposé à celui de la précession des noyaux, en créant un champ secondaire $H' = -\sigma H_0$. Le noyau est soumis à l'action du champ effectif

$$H_{eff} = H_0 + H' = (1 - \sigma) H_0, \tag{5.64}$$

σ étant la *constante d'écran*. Sa valeur varie suivant les directions dans la molécule, i.e. σ est une quantité anisotrope. Dans les liquides elle prend une valeur moyenne.

La position de la raie spectrale RMN par rapport à une certaine ligne de référence est dite *déplacement chimique*. L'étalon usuel pour la résonance protonique des composés organiques est le tétraméthylsilane $(CH_3)_4Si$; pour les solutions aqueuses des biopolymères c'est l'acide diméthyl-2,2 silane-2 pentane sulfonique-5. On exprime le déplacement chimique par le rapport du décalage de fréquence (de champ) à la valeur de référence, en multipliant ce rapport par 10^6:

$$\delta = \frac{\Delta\omega}{\omega_0} \cdot 10^6 = \frac{\Delta H}{H_0} \cdot 10^6. \tag{5.65}$$

Dans le cas des biopolymères δ des protons aliphatiques varie entre —0,5 et —2,0, δ des protons aromatiques est compris entre —6,0 et —8,5, etc.

Lorsque la résolution est élevée, on observe la *structure hyperfine* (multiplète) des raies RMN. Elle est le résultat de l'interaction magnétique entre noyaux transmise par les électrons de liaison (le couplage spin-spin indirect). Ainsi, dans $ClH_2C—CHCl_2$ le proton du groupe CH peut présenter l'un des deux états: avec le spin +1/2 ou

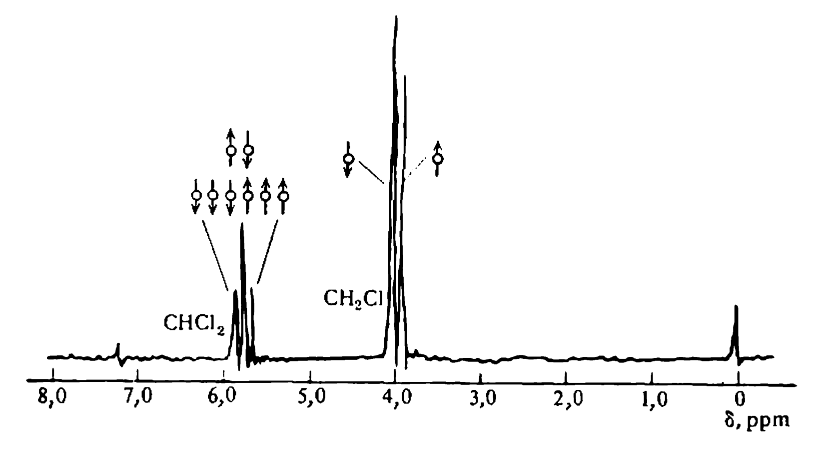


Fig. 5.25. Structure hyperfine du spectre de résonance protonique de $ClH_2C—CHCl_2$

—1/2. Voilà pourquoi la raie protonique du groupe CH_2 voisin se scinde en deux. Le groupe CH_2 peut présenter trois états non équivalents de sa paire de protons: +1/2, +1/2; +1/2, —1/2 (—1/2, +1/2); —1/2, —1/2. La raie du proton de CH subit une décomposition triplète (fig. 5.25).

L'examen des déplacements chimiques et de la structure hyperfine renseigne quantitativement sur la disposition et les interactions des noyaux atomiques. En utilisant des appareils à haute résolution (aimants puissants avec bobine supraconductrice, fréquences de l'ordre de 300 MHz), on arrive à séparer une multitude de raies de résonance protonique qui se recouvrent dans les protéines. La deutération sélective des protéines apporte dans ce cas une aide importante. Les méthodes de RMN ont été appliquées avec succès à l'étude des propriétés conformationnelles des biopolymères, des interactions des protéines avec les substances pharmacologiques, des interactions enzyme-ligand, antigène-anticorps, etc. Dans le cadre de la biophysique moléculaire les possibilités de la spectroscopie RMN sont illimitées.

La RMN sur ^{31}P et ^{13}C donne également de bons résultats dans

l'étude des cellules et des tissus vivants. Les méthodes fondées sur la transformation de Fourier permettent de séparer un signal faible du fond. On utilise pour le faire une impulsion puissante de radiofréquence qui excite simultanément tout un spectre de résonance, dont les fréquences isolées sont sélectionnées à l'aide d'un ordinateur. C'est ainsi que l'on a étudié les phénomènes se déroulant dans le muscle vivant : variation de la concentration en ATP et en phosphate de créatine lors de la contraction musculaire (v. § 12.3). La position du pic de ^{31}P du phosphate inorganique dans le myocarde est fonction du pH, d'où son déplacement en cas de manque d'oxygène. Il existe donc une possibilité de principe d'appliquer la RMN en cardiologie.

Considérons maintenant la RPE. L'électron a le spin $s = 1/2$, son niveau énergétique se scinde dans le champ H_0 en deux niveaux séparés par une distance qui correspond à la condition de résonance (cf. (5.58)) :

$$\hbar\omega_0 = g\mu_B H_0, \tag{5.66}$$

où μ_B est le magnéton de Bohr, 1836 fois plus grand que le magnéton nucléaire:

$$\mu_B = \frac{e\hbar}{2m_e c} = 0{,}93 \cdot 10^{-20} \text{ erg/Gs}, \tag{5.67}$$

m_e la masse de l'électron. Pour un électron libre $g = 2{,}0023$. Dans le champ $H_0 = 10^4$ Gs la fréquence de résonance $\nu_e = 2{,}8 \cdot 10^{10}$ s^{-1} ($\nu_p = 4{,}26 \cdot 10^7$ s^{-1}).

Dans la grande majorité des composés organiques les spins électroniques se trouvent compensés et la RPE est absente. On observe la RPE chez les *radicaux libres* et chez les molécules à nombre impair d'électrons. Ici la RPE fournit une information extrêmement importante sur la structure électronique du système.

Les raies RPE subissent une scission superfine due au champ local créé par les moments magnétiques des noyaux. Ainsi, le noyau ^{14}N a $J = 1$; par conséquent, les projections du spin nucléaire sur la direction du champ H_0 correspondent aux valeurs du nombre quantique magnétique $m = 1, 0, -1$. Le champ local qui agit sur l'électron d'un radical libre se trouvant à proximité d'un noyau ^{14}N possède trois valeurs et le pic de RPE se décompose en triplet.

La *structure* dite *fine* apparaît dans les cristaux grâce à l'*anisotropie du facteur g*. A la place d'une seule raie on observe un groupe de raies, dont les positions et les intensités dépendent de l'orientation du champ H_0 par rapport aux axes cristallins. La structure fine n'est pas observée dans les liquides.

La largeur des raies du spectre RPE est déterminée, ainsi que dans la RMN, par les relaxations spin-spin et spin-réseau. Les temps T_1 et T_2 sont fonction de la mobilité des particules à spins non nuls

(T_2) et de celle des molécules voisines (T_1). Le temps de relaxation spin-spin T_2 est presque indépendant de la température, étant conditionné par la concentration en particules paramagnétiques. Le temps T_1 augmente, lorsque la température baisse.

La RPE est appliquée avec efficacité à la résolution de nombreux problèmes biologiques et biophysiques. Les radicaux libres se forment au cours de processus redox enzymatiques, sous l'effet de la radiation, etc. La RPE donne des renseignements bien précieux sur ces processus. Son intérêt est particulièrement grand en ce qui concerne l'étude des protéines renfermant comme cofacteurs des atomes métalliques à spin non compensé (hémoprotéines, v. § 6.8, etc.).

On applique largement à l'étude des biopolymères les techniques des *marqueurs de spin*. On fixe sur le biopolymère un radical libre stable à électron non apparié. Les radicaux iminoxyle sont particulièrement pratiques:

H_3C CH_3

R — ⟨ ⟩ $\dot{N}$ → O

H_3C CH_3

Le marqueur de spin est sensible à son entourage, son spectre RPE subit l'influence de l'état conformationnel du biopolymère. La mobilité du marqueur est liée à la mobilité locale du biopolymère, ainsi qu'à celle de sa molécule entière. Les marqueurs de spin ont permis d'établir certaines caractéristiques importantes de la structure et de la dynamique des molécules protéiques. Ces techniques se révèlent également très efficaces dans l'étude des membranes biologiques.

Le sondage d'un système biologique moléculaire ou supramoléculaire à l'aide de marqueurs de spin présente une analogie avec l'utilisation des marqueurs luminescents (p. 157). Il est parfois utile de combiner les deux méthodes.

CHAPITRE 6

PHYSIQUE DES ENZYMES

§ 6.1. Cinétique chimique et catalyse

Le rôle le plus important des protéines est celui d'enzymes. Les enzymes catalysent toutes les réactions biochimiques. Un *catalyseur* accélère la réaction sans y être consommé.

Ordinairement, les vitesses des réactions chimiques dépendent pour beaucoup de la température. Cette dépendance s'exprime empiriquement par la formule d'Arrhenius pour la constante de vitesse de réaction (v. p. 18):

$$k = A \exp(-E^{\ddagger}/RT), \tag{6.1}$$

où $E^{\ddagger}$, l'*énergie d'activation*, caractérise la barrière énergétique que le système a à franchir pour que la réaction ait lieu. La dépendance de k avec $E^{\ddagger}/RT$ découle de la distribution énergétique de Boltzmann, l'exponentielle indiquant la part des molécules ayant l'énergie $E^{\ddagger}$ qui suffit pour la réaction. Les constantes k définissent les vitesses de réactions. Dans une réaction réversible $A \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} B$ les vitesses s'écrivent

$$\vec{v} = k_1 [A], \overleftarrow{v} = k_{-1} [B], \tag{6.2}$$

[A] et [B] étant les concentrations. A l'état d'équilibre $\vec{v} = \overleftarrow{v}$ et la constante d'équilibre

$$K = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = \frac{k_1}{k_{-1}}. \tag{6.3}$$

L'indice eq correspond à la concentration d'équilibre. La différence d'énergies libres entre les produits de la réaction et les réactifs de départ est donnée par

$$\Delta G = -RT \ln K = \Delta H - T\Delta S, \tag{6.4}$$

où ΔH est la différence d'enthalpies et ΔS la différence d'entropies. La réaction n'est possible que si $\Delta G < 0$ (diminution de l'énergie libre). Mais cette condition, si elle est nécessaire, n'est pas encore suffisante pour que la réaction se produise. L'énergie d'activation

$E^{\ddagger}$ peut être tellement élevée que la constante de vitesse devient infiniment petite et la réaction ne se produit pas. Le catalyseur sert à abaisser la barrière d'activation.

Le sens de la formule d'Arrhenius est explicité dans le cadre de la *théorie des vitesses absolues de réactions* (théorie de l'état de transition ou du complexe activé) proposée par Eyring.

On admet que le déroulement de la réaction ne modifie pas la distribution de Boltzmann des molécules entre les états à énergies différentes. La réaction se réalise après avoir franchi la barrière énergétique. La figure 6.1 représente le profil de l'énergie libre pour un processus donné: $\Delta G = G_1 - G_2$ est la différence entre les énergies libres de l'état initial 1 et de l'état final 2, $G^{\ddagger}$ l'énergie libre d'activation dans le processus $1 \rightarrow 2$. Trouvons le nombre des systèmes qui se trouvent dans un certain intervalle δ de la *coordonnée réactionnelle* ξ au sommet de la barrière. La vitesse de réaction est le nombre des systèmes franchissant la barrière par unité de temps. La vitesse moyenne de mouvement du système s'écrit

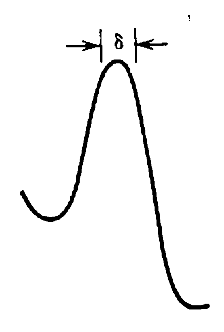


Fig. 6.1. Profil de l'énergie libre pour une réaction chimique

$$\bar{v} = \frac{\int\limits_0^\infty v \exp(-mv^2/2kT)\,dv}{\int\limits_0^\infty \exp(-mv^2/2kT)\,dv} = \left(\frac{kT}{2\pi m}\right)^{1/2}. \tag{6.5}$$

Nous nous sommes servis de la distribution de Maxwell-Boltzmann suivant les énergies cinétiques $mv^2/2$. La vitesse de réaction (nombre de passages par-dessus la barrière par unité de temps) est donnée par

$$\nu = \frac{c'}{\delta}\bar{v} = \frac{c'}{\delta}\left(\frac{kT}{2\pi m}\right)^{1/2}, \tag{6.6}$$

où c' est le nombre de systèmes se trouvant dans les limites du segment δ, par unité de volume. En même temps, on a

$$\nu = kc_A c_B \ldots, \tag{6.7}$$

où c_A, c_B, ... sont les concentrations des réactifs. Il découle de (6.6) et (6.7) que

$$k = \frac{c'}{c_A c_B \ldots}\left(\frac{kT}{2\pi m}\right)^{1/2}\frac{1}{\delta} = K'\left(\frac{kT}{2\pi m}\right)^{1/2}\frac{1}{\delta}. \tag{6.8}$$

Ici K' est la constante d'équilibre pour le passage des réactifs A, B, ... à l'état activé. La constante d'équilibre est exprimée par les sommes statistiques

$$Z = \sum_i \exp(-E_i/kT), \tag{6.9}$$

où E_i est l'énergie de l'i-ème état du système. La sommation s'étend à tous les états. Dans notre cas

$$K' = \frac{Z_{c.a}}{Z_A Z_B \ldots}, \tag{6.10}$$

où $Z_{c.a}$, Z_A, Z_B, ... sont respectivement les sommes statistiques pour le complexe (état) activé et les réactifs A, B, ... Lorsqu'il s'agit du mouvement de translation d'une particule, l'ensemble d'états est continu et la somme (6.9) est remplacée par l'intégrale qui est égale à

$$Z_{tr} = \delta^3 \left(\frac{2\pi mkT}{h^2}\right)^{3/2}, \tag{6.11}$$

où h est la constante de Planck, m la masse de la particule. Nous avons posé que le volume occupé par la particule vaut δ^3 et que Z_{tr} est la somme statistique sur trois degrés de liberté du mouvement de translation. Mais comme le système ne possède qu'un degré de liberté — dans la direction de la réaction — on obtient

$$Z_{c.a} = Z'_{c.a}\delta \left(\frac{2\pi mkT}{h^2}\right)^{1/2}, \tag{6.12}$$

où $Z'_{c.a}$ est la somme statistique pour le complexe activé sur tous les degrés de liberté à l'exception de celui de la translation. On tire de (6.8), (6.10) et (6.12)

$$k = \frac{kT}{h} \frac{Z'_{c.a}}{Z_A Z_B \ldots}. \tag{6.13}$$

La longueur conventionnelle δ a diminué. Les grandeurs statistiques sont en rapport direct avec les grandeurs thermodynamiques. On a

$$Z = \exp(-G/RT) \tag{6.14}$$

et, par conséquent,

$$k = \frac{kT}{h} \frac{\exp(-G'/RT)}{\exp(-G_A/RT)\exp(-G_B/RT)\ldots} =$$

$$= \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{G' - G_A - G_B - \ldots}{RT}\right) = \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{G^{\ddagger}}{RT}\right). \tag{6.15}$$

Ici $G^{\ddagger}$ est l'excès de l'énergie libre du complexe activé par rapport à l'énergie libre totale des réactifs, i.e. l'*énergie libre d'activation.*

En déduisant l'expression (6.15) on part de l'hypothèse qu'une fois la barrière d'activation atteinte, le système subit obligatoirement une transformation chimique. Cependant, cela n'arrive pas toujours. En introduisant un facteur supplémentaire, coefficient de transmission $\varkappa \leqslant 1$, on obtient l'expression définitive pour la constante de vitesse d'une réaction gazeuse homogène: la *formule d'Eyring*:

$$k = \varkappa \frac{kT}{h} \exp(S^{\ddagger}/R) \exp(-H^{\ddagger}/RT), \tag{6.16}$$

$S^{\ddagger}$ étant l'entropie et $H^{\ddagger}$ l'enthalpie d'activation. La valeur de $\varkappa = 1$ correspond au déroulement adiabatique de la réaction, i.e. au processus, dans lequel les paramètres d'un système mécanique changent lentement. Dans une réaction chimique ces paramètres sont les positions des noyaux atomiques. Pour toute configuration des noyaux les électrons se déplacent comme si les noyaux demeuraient immobiles. Si le processus n'est pas adiabatique, $\varkappa \ll 1$ et

peut prendre des valeurs de l'ordre de 10^{-5}. Les valeurs de $\varkappa$ observées dans les réactions gazeuses sont généralement proches de 1: autrement dit, ces réactions sont adiabatiques. Aux températures ordinaires le facteur kT/h est de l'ordre de 10^{13} s^{-1}.

Confrontons la formule d'Eyring (6.16) à celle d'Arrhenius (6.1). Si l'on identifie l'enthalpie à l'énergie d'activation, le facteur préexponentiel devient

$$A = \varkappa \frac{kT}{h} \exp(S^{\ddagger}/R). \tag{6.17}$$

Les valeurs des paramètres d'activation sont tirées de la relation liant k à la température. Lorsque $\varkappa = 1$,

$$\ln k = \frac{S^{\ddagger}}{R} + \ln \frac{kT}{h} - \frac{H^{\ddagger}}{RT}. \tag{6.18}$$

Le deuxième terme dépend peu de T et peut être négligé. On obtient une dépendance linéaire de $\ln k$ avec $1/T$. La pente de la courbe donne $H^{\ddagger}$, le segment intercepté sur l'axe d'ordonnées fournit $S^{\ddagger}$. Le caractère non linéaire de cette dépendance témoigne d'une complication du processus, notamment, de sa coopérativité. Dans ce cas l'énergie libre d'activation n'est pas constante, elle dépend du nombre des systèmes ayant déjà réagi et donc de T. C'est comme lorsqu'on a à descendre d'un autobus plein à craquer. D'abord il est bien difficile d'en sortir et on applique une grande énergie d'activation. Au fur et à mesure que l'autobus se vide, cette énergie diminue. Un bon exemple de la cinétique coopérative.

Aujourd'hui on n'arrive à calculer les constantes de vitesse selon la formule (6.16) que pour les réactions gazeuses les plus élémentaires.

Soulignons qu'il ne faut en aucun cas interpréter h/kT comme la durée de vie du complexe activé. Une telle interprétation conduirait à un contre-sens: l'équilibre statistique ne peut s'établir en 10^{-13} à 10^{-14} s. En réalité, le système existe dans l'état correspondant aux valeurs de la coordonnée réactionnelle comprises entre ξ et $\xi + \delta$. durant un temps proportionnel à δ. Ce temps doit être interprété de la même façon que le temps d'existence des états considérés dans la théorie de Maxwell et Boltzmann. Le fait que h/kT est petit ne permet pas de conclure à l'impossibilité d'établissement d'un équilibre entre le complexe activé et les réactifs. Le terme « complexe activé » se rapporte aux états d'un système atomique soumis à des transformations; il ne veut pas dire qu'il existe réellement un complexe métastable se prêtant à l'étude chimique ou physique.

La théorie d'Eyring est directement applicable aux réactions chimiques gazeuses, ainsi qu'aux processus cinétiques physiques

(écoulement visqueux, diffusion, cf. § 12.4). Mais on ne peut l'utiliser, lorsqu'il s'agit de réactions en solution.

Parlons maintenant de la catalyse. Comme on l'a déjà dit, le rôle du catalyseur consiste à diminuer l'énergie libre d'activation et à augmenter par là la constante de vitesse de la réaction. Il faut savoir distinguer la *catalyse hétérogène* de la *catalyse homogène*. Dans le premier cas le catalyseur forme une phase à part et la réaction se déroule à l'interface. Le processus débute par l'*adsorption* des réactifs à cette surface de séparation qui peut être, par exemple, la surface d'un catalyseur solide accélérant une réaction en phase gazeuse ou liquide. L'adsorption s'accompagne d'une modification de la structure électronique des réactifs et d'une diminution de l'énergie libre d'activation. Une fois la réaction achevée, les produits sont désorbés de la surface. Dans le cas de la catalyse homogène le catalyseur et les réactifs se trouvent dans une même phase, par exemple en solution. Le catalyseur forme une combinaison intermédiaire avec les réactifs qui se décompose ensuite en catalyseur et produits de la réaction.

Les enzymes fonctionnent soit en solution, soit à l'intérieur des structures supramoléculaires. La sorption des réactifs (dits *substrats*) et la réaction elle-même se produisent à une certaine surface d'une grande molécule protéique. Dans ce sens la catalyse enzymatique ressemble à la catalyse hétérogène. Mais la protéine-enzyme et les petites molécules des substrats sont dans une même phase, en solution. Il existe là une stœchiométrie stricte d'interaction : en règle générale, un globule protéique agit sur une molécule de substrat ou d'un autre ligand. Cette interaction conduit à un *complexe enzyme-substrat* (CES), dont la structure et les propriétés peuvent être étudiées par des méthodes physiques ou chimiques. La catalyse enzymatique en solution est une catalyse homogène.

On peut considérer l'enzyme comme une sorte de « boîte noire » qui transforme le signal d'entrée (molécule de substrat) en signal de sortie (molécule de *produit*). Il existe deux méthodes pour étudier la structure et le fonctionnement d'une « boîte noire » : étude de la structure moléculaire de l'enzyme et du CES et l'étude de la cinétique des réactions enzymatiques.

§ 6.2. Cinétique des réactions enzymatiques simples

Examinons la réaction enzymatique élémentaire de transformation du substrat en produit par un processus à une étape:

$$F_0 + S \underset{k_{-2}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} F_1 \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} F_0 + P.$$

Ici F_0 est l'enzyme libre, S le substrat, F_1 le CES, P le produit. Les flèches portent les indications des constantes de vitesse

des réactions. Posons, par souci de simplicité, qu'on peut négliger k_{-2} (réaction inverse). Les équations cinétiques ont la forme suivante (ici F_i, S et P sont les concentrations):

$$\begin{aligned} \dot{S} &= -k_1F_0S + k_{-1}F_1, \\ \dot{F}_1 &= k_1F_0S - (k_{-1} + k_2) F_1, \\ \dot{P} &= -\dot{S} = k_2F_1. \end{aligned} \tag{6.19}$$

La concentration totale de l'enzyme est constante:

$$F_0 + F_1 = E = \text{const.} \tag{6.20}$$

Après avoir éliminé F_0 de la deuxième équation (6.19) à l'aide de (6.20), on a

$$\dot{F}_1 = k_1ES - (k_{-1} + k_2 + k_1S) F_1. \tag{6.21}$$

Le système est dans un état stationnaire, si le substrat présente un grand excès, $S \gg E$. Tant que l'état stationnaire est maintenu, $\dot{F}_1 = 0$ (et, certainement, $\dot{F}_0 = 0$). Pour l'expliquer, considérons un exemple concret. On a à lacer ses souliers. Pour le faire plus vite, on met le pied sur une chaise qui joue ainsi le rôle de catalyseur. Le substrat est le soulier délacé, le produit le soulier lacé, l'enzyme libre la chaise inoccupée, le CES le pied posé sur la chaise. S'il y a beaucoup de personnes pressées de lacer leurs souliers (des marins à qui on a sonné le branle-bas) et que le nombre de chaises soit limité, le nombre des chaises utilisées sera constant durant un certain temps.

Ainsi, à l'état stationnaire $\dot{F}_1 = 0$ et l'on tire de (6.21)

$$F_1 = \frac{k_1ES}{k_{-1} + k_2 + k_1S}. \tag{6.22}$$

Il découle de (6.19)

$$v = \dot{P} = -\dot{S} = k_2F_1 = \frac{k_1k_2SE}{k_{-1} + k_2 + k_1S}, \tag{6.23}$$

v étant la vitesse de réaction. En divisant le numérateur et le dénominateur par k_1, on obtient l'*équation de Michaelis-Menten*:

$$v = \frac{k_2SE}{K_M + S}, \tag{6.24}$$

où la *constante de Michaelis*

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}. \tag{6.25}$$

Avant d'examiner cette équation, démontrons que l'état stationnaire se réalise réellement, lorsque $S \gg E$. Intégrons l'équation (6.21) en posant S pratiquement constant (en le considérant comme un paramètre à variation len-

te). A l'instant $t = 0$, lorsque l'enzyme est ajouté au substrat, $F_1(0) = 0$ (la totalité de l'enzyme est libre). On obtient

$$F_1 = \frac{k_1ES}{k_{-1}+k_1+k_1S}(1-e^{-t/\tau}), \qquad (6.26)$$

où

$$\tau = (k_{-1}+k_2+k_1S)^{-1}.$$

Le CES F_1 retourne en relaxant à la valeur stationnaire correspondant à $\dot{F}_1 = 0$ avec une constante de temps τ d'autant plus vite que la concentration en substrat S est plus élevée. On tire de (6.26) que

$$\dot{F}_1 = k_1ES\exp(-t/\tau) \to 0. \qquad (6.27)$$

En substituant les valeurs de F_1 de (6.26) et de $\dot{F}_1$ de (6.27) dans la première équation (6.19), on trouve

$$\dot{S} = -k_1ES\exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) - \frac{k_1k_2ES}{k_{-1}+k_2+k_1S}\left[1-\exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)\right], \qquad (6.28)$$

ce qui veut dire que $\dot{S}$ tend effectivement vers sa valeur stationnaire (6.23), lorsque $t \to \infty$. Cela est lié à l'hypothèse de départ sur la variation lente de S. La vitesse relative de variation de S est effectivement petite, lorsque $S \gg E$. $\dot{S}$ diminue de façon monotone dans le temps, sa valeur maximale correspondant à l'instant initial $t = 0$:

$$\dot{S}(0) = -k_1ES.$$

La mesure maximale de la variation de S est donc

$$\Delta S \approx \dot{S}(0)\tau = -\frac{k_1ES}{k_{-1}+k_2+k_1S}. \qquad (6.29)$$

Il est facile de se rendre compte que pour $E \ll S$

$$|\Delta S| \ll S.$$

En même temps, $\Delta F_1 \approx \dot{F}_1(0)\tau \approx -\Delta S$ et $\Delta F_1/E \gg |\Delta S|/S$.

Revenons à l'équation (6.24). La dépendance $v(S)$ est similaire à l'isotherme de Langmuir (fig. 6.2). La courbe n'a aucune singularité, la vitesse de réaction tendant de façon asymptotique vers sa valeur maximale, lorsque $S \to \infty$:

$$v_{\max} = k_2E. \qquad (6.30)$$

Par conséquent,

$$v = \frac{v_{\max}S}{K_M+S}. \qquad (6.31)$$

Lorsque $v = 0{,}5\, v_{\max}$ on a $S = K_M$, i.e. la constante de Michaelis est la concentration du substrat, pour laquelle la vitesse de réaction vaut la moitié de la vitesse maximale.

Il est commode de transformer l'équation (6.31) selon Lineweaver et Burke:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{\max}}\frac{1}{S} + \frac{1}{v_{\max}}. \qquad (6.32)$$

En représentant graphiquement $1/v$ en fonction de $1/S$, on trouve $1/v_{max}$ au point d'intersection de la droite et de l'axe d'ordonnées et K_M d'après la pente de la droite. La constante de Michaelis peut être représentée sous la forme

$$K_M = k_2/k_1 + K_S, \text{ où } K_S = k_{-1}/k_1.$$

Il est possible de déterminer les trois constantes de vitesse en représentant (6.32) à l'aide de (6.30) sous la forme

$$\frac{v_{max}}{v} - 1 = \frac{K_S}{S} + \frac{v_{max}}{k_1 ES}. \qquad (6.33)$$

Pour cette valeur de S la dépendance de $v_{max}/v - 1$ avec v_{max} est représentée par une droite découpant sur l'axe d'ordonnées le seg-

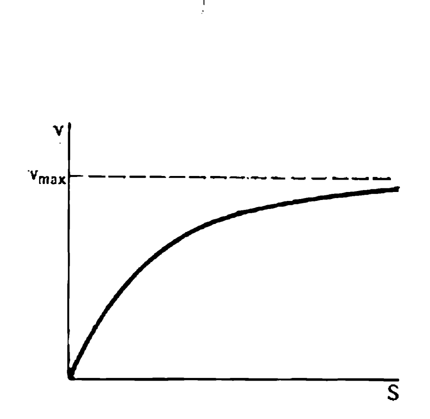


Fig. 6.2. Courbe de Michaelis-Menten

Fig. 6.3. Schémas des processus à inhibition compétitive (*a*) et à inhibition non compétitive (*b*)

ment K_S/S et sur l'axe d'abscisses le segment $-1/k_1ES$. On peut trouver k_1, k_{-1} et k_2 à partir des droites obtenues pour différentes valeurs de S et de E.

Considérons maintenant la même réaction en présence d'un effecteur : substance qui fait varier la vitesse de réaction. Si l'effecteur ralentit la réaction, on l'appelle *inhibiteur*; dans le cas contraire c'est l'*activateur*. Désignons par I la concentration de l'inhibiteur. On a représenté sur la figure 6.3 les schémas graphiques (*graphes*) de deux cas élémentaires d'inhibition. Lors de l'*inhibition compétitive* l'enzyme forme, parallèlement au CES, un complexe inactif avec I, désigné F_2. L'inhibiteur entre en compétition avec le substrat en se fixant sur le site actif de l'enzyme. Lors de l'*inhibition non compétitive* le complexe F_2 résulte de l'interaction du CES F_1 avec I.

Dans le premier cas les équations de cinétique stationnaire prennent, pour $S \gg E$, $I \gg E$, la forme

$$\begin{aligned} \dot{F}_0 &= -(k_1S + k_3I)\,F_0 + (k_{-1} + k_2)\,F_1 + k_{-3}F_2 = 0, \\ \dot{F}_1 &= k_1SF_0 - (k_{-1} + k_2)\,F_1 = 0, \\ \dot{F}_2 &= k_3IF_0 - k_{-3}F_3 = 0, \\ E &= F_0 + F_1 + F_2, \qquad v = k_2F_1. \end{aligned} \tag{6.34}$$

Leur solution a la forme

$$F_1 = \frac{k_1S}{k_{-1} + k_2} F_0, \quad F_2 = \frac{k_3I}{k_{-3}} F_0, \quad E = \left(1 + \frac{k_1S}{k_{-1} + k_2} + \frac{k_3I}{k_{-3}}\right) F_0,$$

et, donc,

$$v = \frac{k_2k_1S}{k_{-1} + k_2} F_0 = \frac{k_2SE}{K_M + S + K_MK_II}. \tag{6.35}$$

où $K_I = k_3/k_{-3}$. La vitesse maximale $v_{max} = k_2E$ ne varie pas, mais la vitesse qui correspond aux petits S diminue.

Lors de l'inhibition non compétitive

$$\begin{aligned} \dot{F}_0 &= -k_1SF_0 + (k_{-1} + k_2)\,F_1 = 0, \\ \dot{F}_1 &= k_1SF_0 - (k_{-1} + k_2 + k_3I)\,F_1 + k_{-3}F_2 = 0, \\ \dot{F}_2 &= k_3IF_1 - k_{-3}F_2 = 0, \\ E &= F_0 + F_1 + F_2, \quad v = k_2F_1. \end{aligned} \tag{6.36}$$

La solution a la forme

$$v = \frac{k_2SE}{K_M + S + K_ISI}. \tag{6.37}$$

Dans ce cas la vitesse maximale décroît:

$$v_{max} = \frac{k_1E}{1 + k_II}. \tag{6.38}$$

En pratique la situation est souvent plus complexe.

Dans le cas d'un système non stationnaire la résolution des problèmes cinétiques, même les plus simples, est impensable sans emploi d'ordinateurs. Les solutions numériques fournissent une information plus riche sur les constantes de vitesse, ce qui est indispensable dans les cas compliqués.

En réalité, même dans les cas simples, la transformation du substrat en produit se déroule en plusieurs étapes:

$$E + S \underset{\text{Désorption}}{\overset{\text{Sorption}}{\rightleftarrows}} ES \underset{\text{Transformation inverse}}{\overset{\text{Transformation}}{\rightleftarrows}}$$

$$\rightleftarrows EP \underset{\text{Sorption}}{\overset{\text{Désorption}}{\rightleftarrows}} E + P.$$

Ici E est F_0, ES ⇄ EP a été désigné par F_1 (voir plus haut). L'étude de la dépendance des constantes de vitesse avec la température permet de déterminer les valeurs effectives de l'énergie libre, de l'enthalpie et de l'entropie d'activation. La réaction a un profil complexe pour ces valeurs (fig. 6.4). Elles ont été déterminées pour de nombreux processus, ce qui a permis de mettre en évidence le rôle important de la contribution entropique. $G^{\ddagger}$ des réactions enzymatiques est caractérisé par des valeurs de l'ordre de 40 à 80 kJ/mol, $H^{\ddagger}$ par des valeurs du même ordre, alors que $S^{\ddagger}$ vaut entre 40 et

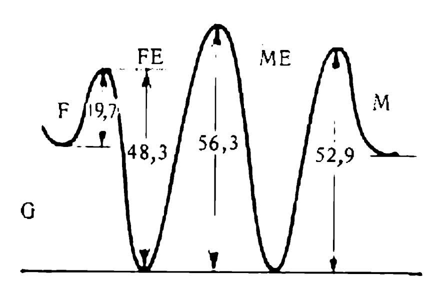


Fig. 6.4. Courbe d'énergie libre pour la réaction fumarate ⇄ malate: F — fumarate, M — malate, FE et ME sont leurs complexes avec l'enzyme. Les chiffres représentent l'énergie en kJ/mol

160 J/(mol·K). Rappelons qu'à 300 K 140 J/(mol·K) apportent une contribution à l'énergie libre, égale à 42 kJ/mol. L'existence d'un *effet de compensation* a également été établie. Les variations d'enthalpie ΔH dans les processus en solution aqueuse sont souvent proportionnelles aux variations d'entropie ΔS. On observe la même chose pour les paramètres d'activation: $H^{\ddagger}$ est proportionnel à $S^{\ddagger}$. Selon Lumry, cet effet serait déterminé par les propriétés de l'eau: le changement de la conformation de la protéine, au cours duquel l'eau est déplacée de la cavité active du globule, provoque une restructuration de l'eau qui l'entoure. L'effet de compensation peut être important pour les organismes à sang chaud. Le fait que ΔG et $G^{\ddagger}$ varient peu grâce à la compensation se traduit par une faible sensibilité des processus enzymatiques vis-à-vis des changements de température dans le milieu ambiant.

Toutefois, les valeurs de $G^{\ddagger}$, $H^{\ddagger}$ et $S^{\ddagger}$ pour les réactions enzymatiques sont toutes conventionnelles. Les mesures cinétiques ne peuvent s'effectuer que dans un étroit intervalle de températures. Les paramètres d'activation dépendent beaucoup de la composition ionique du milieu, du pH et ainsi de suite. Alors l'équation d'Arrhenius peut ne pas se vérifier, car le globule subit des restructurations en fonction de la température. Mais cette interprétation de

l'effet de compensation peut bien n'être qu'illusoire. Ces problèmes attendent encore à être éclaircis.

La dépendance notable de l'activité enzymatique avec le pH du milieu est déterminée par la nature polyélectrolytique des enzymes. L'activité enzymatique, caractérisée, notamment, par la constante k_2, présente, par rapport au pH, une dépendance « en cloche »: k_2 est maximal pour une certaine valeur du pH et diminue, lorsque le pH croît ou décroît. On a proposé quelques modèles théoriques expliquant dans les grandes lignes cette dépendance. Mais la vraie théorie exige des renseignements plus détaillés sur les enzymes que ceux, dont on dispose aujourd'hui.

§ 6.3. Aspects chimiques de l'action des enzymes

Les traits caractéristiques de la catalyse enzymatique sont une grande activité et une spécificité rigoureuse vis-à-vis du substrat ou d'un groupe de substrats.

On appelle activité moléculaire d'un enzyme le nombre de moles de substrat qu'une mole d'enzyme transforme en une minute en présence d'un grand excès de substrat, $S \gg E$. Les propriétés des enzymes sont étudiées *in vitro*. Plusieurs enzymes ont été obtenus sous une forme cristalline.

Les substrats ont la forme de petites molécules ou de petits groupes de grosses molécules. L'enzyme est, par contre, macromoléculaire. Le substrat ne réagit donc directement qu'avec une petite portion de la molécule d'enzyme: avec son *site actif*. La nature du site actif, i.e. la composition et la séquence des résidus acides aminés et des *cofacteurs* (v.p. 48) entrant dans sa composition, est connue pour un certain nombre d'enzymes. Nous avons déjà mentionné (p. 60) la reconnaissance enzyme-substrat. Les variations d'activité provoquées par une modification chimique de la protéine, permettent de mettre en évidence les groupements fonctionnels du site actif. On obtient des renseignements sur sa structure au moyen de techniques optiques et spectrales, ainsi que par radiocristallographie des complexes que l'enzyme forme avec les inhibiteurs compétitifs, dont la structure est proche de celle des substrats.

La diversité des résidus acides aminés de l'enzyme et des groupements atomiques du cofacteur détermine la polyfonctionnalité du site actif: son aptitude à fixer le substrat et à exercer une activité catalytique. La réaction enzymatique se déroule en plusieurs étapes, passant par une série de transformations chimiques. Ainsi, le site actif des *estérases* renferme la sérine (Ser) qui est acylée lors d'une étape intermédiaire du processus. Le substrat subit l'action concertée de plusieurs groupements du site actif. Citons l'exemple de la *créatine-kinase* qui catalyse la réaction

$$ATP^{4-} + \text{créatine} \rightleftharpoons ADP^{3-} + \text{phosphocréatine}^{2-} + H^+.$$

La figure 6.5 représente le schéma de l'état transitoire de cette réaction. C'est l'ion Mg^{2+} qui y sert de cofacteur. Le groupe SH a un rôle particulièrement important à jouer dans le site actif. L'enzyme est inactivé par l'iodo-acétamide et l'iodo-acétate. En présence de Mg^{2+} et des deux substrats le groupe SH se trouve protégé contre l'action des agents de blocage. Le groupe SH serait réuni par une liaison hydrogène à un des groupements principaux de l'enzyme. Grâce à la transition facile du proton dans un système acide-base à liaison hydrogène, un tel système présente une haute activité catalytique. On

Fig. 6.5. Illustration schématique de l'action de la créatine-kinase. Etats transitoires

a représenté sur la figure 6.5 les déplacements électroniques dans les substrats et dans les groupements du site actif.

Au cours de la formation d'un complexe enzyme-substrat il est important qu'il y ait une orientation mutuelle précise des groupements fonctionnels de l'enzyme et du substrat (ou de l'effecteur). Le site actif est, naturellement, chiral et, par là, stéréospécifique. On a pu établir à l'aide de traceurs atomiques que les réactions des molécules du type CAABD se déroulent à la surface de l'enzyme de façon asymétrique. C'est le cas, par exemple, de la transformation de l'acide aminomalonique en glycine

$$\begin{array}{c} C^*OOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} C^*OOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ H \end{array}$$

(C* est le carbone marqué). On voit que la réaction ne porte que sur un seul groupe COOH, identique chimiquement et géométriquement à l'autre. C'est l'asymétrie du site actif qui en est responsable. Les groupements de l'enzyme liés aux carboxyles étant différents, les réactions des carboxyles ne sont pas les mêmes. Les enzymes savent

bien distinguer les stéréo-isomères: l'antipode optique d'un substrat donné n'est plus un substrat.

La radiocristallographie directe des complexes de la *lysozyme* avec les analogues inhibiteurs des substrats (polysaccharides) a montré que le ligand pénétrait dans la cavité qui existe dans le globule de la lysozyme et qu'il y entrait en contact avec plusieurs groupements fonctionnels de l'enzyme (Phillips). La structure d'un tel complexe est montrée sur la figure 6.6. L'insertion du substrat a aussi été constatée pour d'autres systèmes. Pour une série d'enzymes on connaît en détail la suite des transformations chimiques: les étapes de la réaction qui se déroule dans le site actif du CES. Ainsi, Braunstein et ses collaborateurs ont étudié la chimie de l'*aspartate-aminotransférase* (AAT). Cet enzyme renferme, en qualité de cofacteur, le *pyridoxal-phosphate* (PALP). Le PALP, joint à la protéine, réagit chimiquement sur le substrat (acide aminé) en formant une *aldimine* (*base de Schiff*):

$$R_1-\underset{COOH}{\overset{H_\alpha}{C}}-NH_2 + O{=}CH-C_5N(HO)(CH_3)(H_2COPO_3H_2-\text{Protéine}) \underset{+H_2O}{\overset{-H_2O}{\rightleftharpoons}} R_1-\underset{COOH}{\overset{H_\alpha}{C}}-N{=}CH-C_5N(HO)(CH_3)(H_2COPO_3H_2-\text{Protéine})$$

L'atome H_α est facilement dissociable dans l'aldimine. Dans les réactions de transamination l'aldimine se tautomérise en cétimine:

$$\begin{matrix}R_1\\ HOOC\end{matrix}\!\!>C{=}N-CH_2-C_5N(HO)(CH_3)(H_2COPO_3H_2-\text{Protéine})$$

L'eau hydrolyse cette dernière avec formation d'un cétoacide:

$$\begin{matrix}R_1\\ HOOC\end{matrix}\!\!>C{=}O + H_2N-CH_2-C_5N(HO)(CH_3)(H_2COPO_3H_2-\text{Protéine})$$

L'enzyme prend une forme pyridoxaminée et réagit sur un autre cétoacide qui renferme R_2 à la place de R_1, en restituant l'enzyme de départ et en formant un nouvel acide aminé $R_2CH(COOH)NH_2$. Tel est le schéma de la réaction de *transamination* : transfert du groupe amine.

Pratiquement toutes les réactions catalysées par les enzymes sont possibles en leur absence, mais elles deviennent alors beaucoup plus

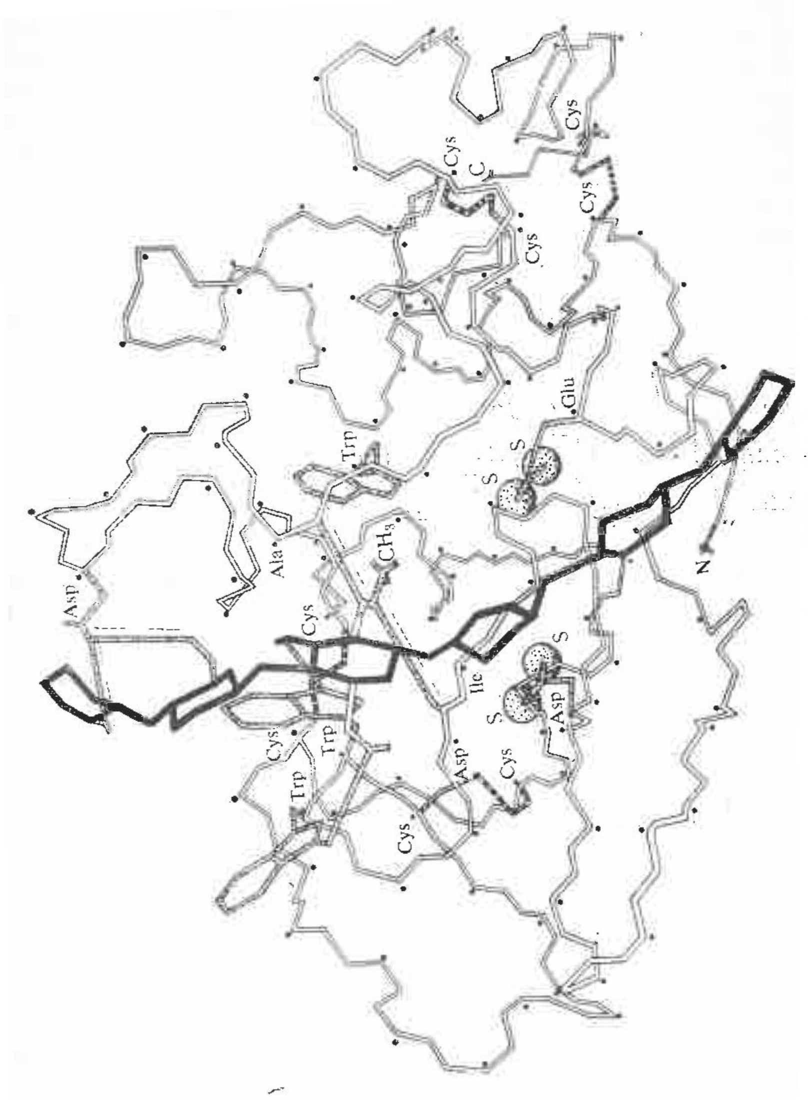


Fig. 6.6. Structure du complexe lysozyme-β-N-acétalglucosamine (ce dernier composé est en noir)

lentes, ce qui permet de simuler différentes étapes d'un processus enzymatique à l'aide de « *systèmes congruents* » bas-moléculaires.

Un tel modèle pour la réaction catalysée par l'AAT a été construit par Ivanov et Karpeïski. Le premier stade du processus consiste en une fixation faible de l'aminoacide par le site actif. Le second est l'addition nucléophile du groupe amine du substrat sur la liaison N=C⟨ de l'aldimine. Le groupe phénol du coenzyme, à charge négative, joue le rôle d'accepteur du proton du groupe NH_2. Le groupe amine nucléophile non ionisé se trouve ainsi placé au voisinage de la forme cationique, hautement réactive, de l'enzyme. Les modèles moléculaires spatiaux ont permis de construire la structure de la forme aldiminique du CES. Ensuite on assiste aux transformations déjà décrites, certaines étapes présentant des mouvements conformationnels: rotations du cycle du coenzyme. Les événements successifs dans le site actif de l'AAT sont schématisés sur la figure 6.7, la flèche circulaire indiquant les rotations du coenzyme. Le fait que la liaison s'effectue en plusieurs points du site actif est à l'origine de la stabilisation de la configuration électronique active, thermodynamiquement désavantageuse en solution, ainsi qu'à l'origine de l'orientation appropriée des groupements en interaction. Chaque étape du processus s'accompagne d'une restructuration qui assure le déroulement optimal de l'étape suivante. Thermodynamiquement, cela correspond à l'égalisation des niveaux d'énergie libre des composés intermédiaires dans le site actif. En effet, le spectre d'absorption du CES renferme les bandes d'absorption de tous les produits intermédiaires principaux de la réaction, alors que dans le système congruent correspondant on n'observe que la bande à 330 nm.

Ces exemples nous ont servi à montrer les possibilités du décodage des interactions entre le site actif de l'enzyme et les ligands. La chimie met en évidence le comportement des groupements fonctionnels de l'enzyme et des cofacteurs. Mais cela ne suffit pas pour expliquer quantitativement l'activité enzymatique caractérisée par une diminution de l'énergie d'activation. La catalyse enzymatique fait intervenir le globule protéique entier. Il est impossible de détacher une partie de la chaîne protéique sans porter préjudice à l'activité de l'enzyme. La chimie ne répond pas à la question sur le rôle de la structure globulaire: elle ne décrit que les événements qui se produisent dans le site actif. C'est à la physique qu'il revient d'élucider ces problèmes.

En faisant un résumé des résultats de l'étude chimique des enzymes, Braunstein a énuméré les facteurs qualitatifs responsables de leur effet.

1. Grande affinité qui existe entre l'enzyme et le substrat, i.e. une grande probabilité de formation d'un CES, équivalente à une augmentation brusque de la concentration des réactifs (*effet de proximité*).

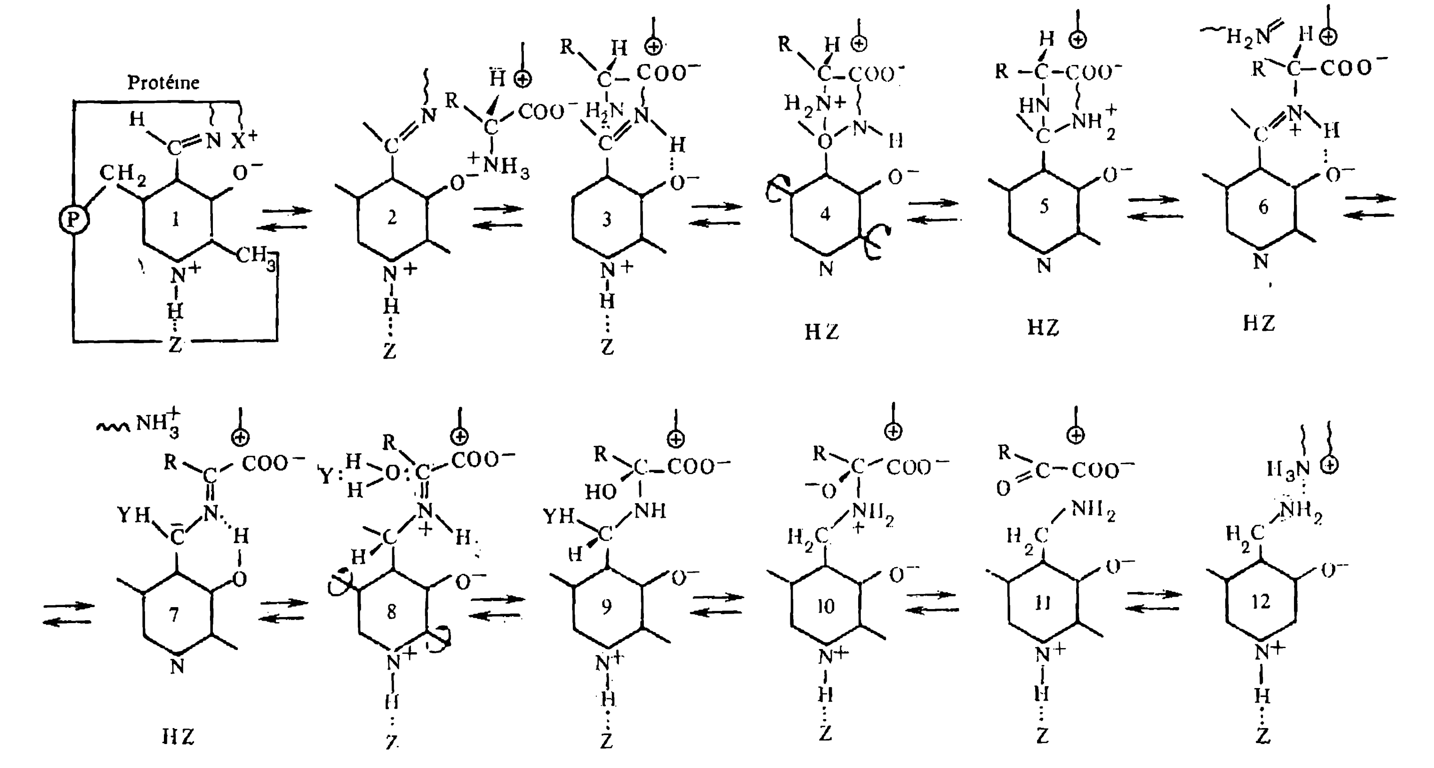


Fig. 6.7. Schéma des événements successifs dans le **site actif de** l'AAT

2. Orientation réciproque stricte des réactifs, des cofacteurs et du site actif (*effet d'orientation*). Dans une réaction homogène ordinaire une telle orientation de trois molécules ou plus est très peu probable.

3. Action, sur le substrat, des groupements nucléophiles et électrophiles du site actif (*effet de catalyse acidobasique synchrone*). Expliquons cet effet à l'aide d'un modèle. L'hydroxypyridine catalyse la *mutarotation* du glucose en rompant son cycle hexagonal et en subissant une transformation tautomère:

La même réaction avec la participation du mélange de pyridine et de phénol

est 7000 fois plus lente. La coopération des groupes acides et basiques, leur action commune accélèrent très sensiblement la réaction.

Tableau 6.1

Vitesses de quelques réactions enzymatiques comparées à celles de leurs analogues non enzymatiques

Enzyme	Analogue non enzymatique	Vitesse du processus enzymatique, v, s^{-1}	Vitesse du processus non enzymatique v_0, s^{-1}	v/v_0
Lysozyme	Hydrolyse d'un acétal, catalyse basique	$5\cdot10^{-1}$	$3\cdot10^{-9}$	$2\cdot10^{8}$
Chymotrypsine	Hydrolyse d'un amide, catalyse basique	$4\cdot10^{-2}$	$1\cdot10^{-5}$	$4\cdot10^{3}$
β-amylase	Hydrolyse d'un acétal, catalyse basique	$1\cdot10^{3}$	$3\cdot10^{-9}$	$3\cdot10^{11}$
Fumarase	Hydrogénation d'un alcène, catalyse acide et basique	$5\cdot10^{2}$	$3\cdot10^{-9}$	$2\cdot10^{11}$

Les vitesses des réactions non enzymatiques ont été multipliées par un coefficient correspondant à l'effet de proximité. Pour deux molécules ayant les dimensions de la molécule H_2O ce facteur vaut 55, i. e. est égal à la concentration molaire de l'eau.

4. Activation du substrat par redistribution de la densité électronique sous l'effet des groupements actifs de l'enzyme (*effet de polarisation*).

5. Modification des conformations de la protéine et du substrat dans le CES (*effet de contact induit*).

La physique a à considérer ce processus de façon quantitative et à déterminer ce faisant, dans quelle mesure il est possible de séparer ces effets.

Voici pour conclure quelques données caractérisant les vitesses des processus enzymatiques et des processus analogues sans intervention d'enzymes (tableau 6.1).

§ 6.4. Propriétés conformationnelles des enzymes

Pour comprendre l'activité enzymatique, il est nécessaire de considérer le comportement conformationnel de la macromolécule protéique. La labilité conformationnelle de la protéine lui assure la possibilité d'une interaction spécifique avec les substrats et autres ligands. Dans certaines de ses conformations la protéine fixe le substrat d'une façon plus efficace. En même temps, il y a une sélection des conformations du substrat. Les conformations de la protéine et du substrat, choisies pour le CES, présentent, les unes envers les autres, une *complémentarité structurale* qui assure la valeur optimale de l'énergie libre d'interaction. Lors de la formation d'un CES on assiste à un « ajustage » mutuel des conformations de la protéine et du substrat ou, autrement dit, à leur sélection spécifique. Les transformations conformationnelles réalisent la complémentarité structurale entre l'enzyme et le substrat.

Les effets conformationnels provoquent des variations considérables d'entropie au cours de la formation d'un complexe enzyme-substrat. La diminution de l'entropie lors du choix d'une conformation déterminée peut être compensée par une diminution de l'enthalpie. L'analyse physique des événements de ce type exige la prise en considération des phénomènes se produisant dans le milieu aqueux environnant.

En son temps Fischer a proposé le *modèle « clé-serrure »* pour l'interaction enzyme-substrat. L'enzyme et le substrat ont des structures rigides, l'enzyme étant « ajusté » au substrat comme une serrure à une clé. Certains faits contredisent ce modèle: l'interaction enzyme-substrat aurait un caractère dynamique et non statique. Koshland a avancé sa théorie de l'*ajustement induit* de l'enzyme et du substrat. Nous allons énumérer les principes de cette théorie qui était avant tout appelée à expliquer la spécificité des enzymes catalysant les réactions de transfert de liaison

$$B - X + Y \rightleftarrows B - Y + X.$$

1. Le substrat, en pénétrant dans le site actif, provoque une modification de la géométrie de l'enzyme.

2. Pour qu'une action enzymatique se produise, il faut qu'il y ait une orientation réciproque appropriée des groupes catalytiques.

3. Le substrat induit cette orientation par les changements qu'il provoque dans la géométrie de l'enzyme.

Il va de soi que cette théorie s'étend également aux cas, où il y a modification de la conformation du substrat et non plus de l'enzyme, ou bien de la conformation de l'un comme de l'autre. L'idée

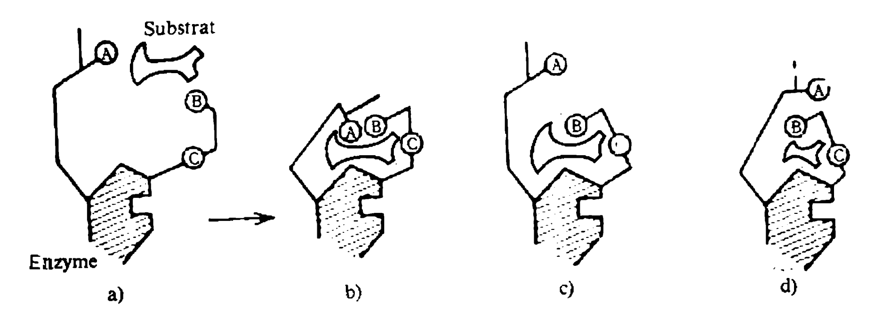


Fig. 6.8. Formation du complexe enzyme-substrat par ajustement induit: *a*) enzyme, *b*) CES, *c*) et *d*) complexes avec des analogues du substrat

principale de la théorie consiste à attribuer le rôle déterminant, pour la catalyse enzymatique, à la labilité conformationnelle des molécules en interaction.

Les thèses 1, 2, 3 sont schématisées sur la figure 6.8. Les figures 6.8, *c* et *d* expliquent l'absence de réaction dans le cas des molécules analogues au substrat, mais ayant une taille différente: les groupements fonctionnels A et B de l'enzyme ne peuvent, dans ces cas, occuper les positions requises. Selon la théorie de Koshland, la spécificité et l'efficacité catalytique de l'enzyme sont en corrélation, mais, leurs mécanismes étant différents, la réaction n'a lieu qu'à condition que les groupes sorbants et catalytique de l'enzyme présentent une disposition mutuelle déterminée par rapport à la molécule de substrat. Pour illustrer cette idée, Koshland cite l'exemple de la β-*amylase*. Cet enzyme agit sur les groupements terminaux de l'amylose, mais jamais sur les autres liaisons glucosidiques de ce polysaccharide. Les cycloamyloses sont les inhibiteurs compétitifs de cet enzyme. Le schéma de la figure 6.9 l'explique. La réaction n'a lieu qu'à une disposition spatiale déterminée des groupements sorbants et catalytiques de l'enzyme (A, B, X).

Certains faits témoignent en effet des transformations conformationnelles des enzymes au cours de leur interaction avec les substrats. Quelques enzymes se font plus rigides en présence des substrats, d'autres, au contraire, deviennent plus labiles: plus faciles à dénaturer

par chauffage. Les substrats induisent la dissociation de la *glutamate-déshydrogénase* et de l'*hexokinase* en sous-unités. L'action du substrat modifie la réactivité des résidus acides aminés de l'enzyme. Le spectre d'absorption de la *chymotrypsine* change, lorsqu'elle réagit avec le substrat, ces changements pouvant être interprétés comme provoqués par une modification de la conformation. Des variations conformationnelles sont également visibles dans les spectres de luminescence dus aussi bien aux résidus acides aminés aromatiques

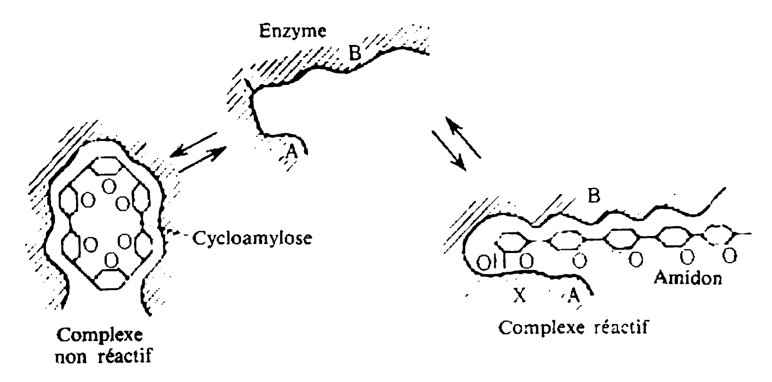


Fig. 6.9. Schéma illustrant l'action de la β-amylase

qu'aux colorants sorbés sur la protéine. La spectropolarimétrie permet de constater des variations du taux d'hélices α, lorsqu'un enzyme interagit avec des substrats, des coenzymes et autres ligands. Les spectres RPE des enzymes à marqueurs paramagnétiques, les spectres RMN, etc., renseignent aussi sur des variations conformationnelles dans les CES.

La radiographie des CES fournit une information directe sur les transformations de conformation. Lorsque le substrat pénètre dans la cavité de la *lysozyme* (p. 198), cette cavité se rétrécit en « serrant » plus étroitement le substrat. Les déplacements des résidus acides aminés de la protéine sont petits, mais visibles : ainsi, le résidu Trp 62 se déplace de 0,075 nm. Parallèlement, il se produit une modification de la conformation de l'analogue du substrat : une faible rotation des cycles glucidiques autour de la liaison glycosidique.

La présence d'une cavité prédestinée au substrat a été constatée par radiographie chez d'autres enzymes. Parallèlement on voit se manifester les groupements du site actif. L'étude de la *carboxypeptidase* a fourni une confirmation directe de l'idée de Koshland sur la complémentarité structurale induite. La présence du substrat (glycyltyrosine) fait sensiblement varier la disposition des résidus acides aminés. Le site actif se présente sous la forme d'une cavité profonde, une sorte de « bouche d'araignée » avec des « palpes » prêtes à conduire

le substrat vers le cofacteur (atome de Zn). Une des « palpes » qui renferme le Tyr 248, se dirige vers le groupe NH du substrat, l'Arg 145 d'une autre entre en interaction avec le carboxyle du substrat, le Glu 270 d'une troisième agit sur le groupe amine terminal (fig. 6.10).

Comme nous l'avons déjà dit (p. 143), une analyse radiocristallographique récente a permis de mettre en évidence une mobilité relative (conformationnelle et vibrationnelle) des différents résidus

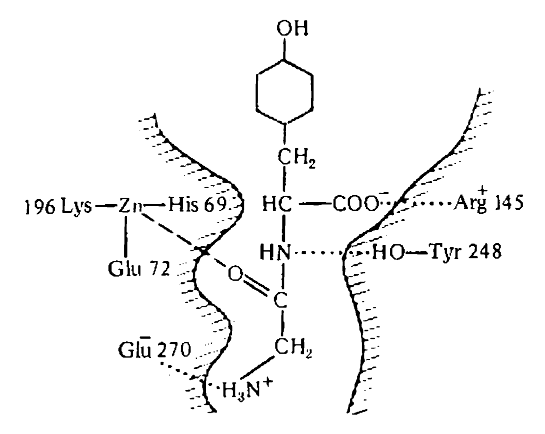


Fig. 6.10. Schéma du site actif de la carboxypeptidase

acides aminés dans les protéines. L'étude de la metmyoglobine et de la lysozyme a montré que les résidus qui se trouvent à l'intérieur du globule sont beaucoup moins mobiles que ceux de sa surface.

Le CES présente donc une correspondance de structure réalisée dans la cavité de la molécule d'enzyme. Comme le montre la comparaison de toutes les structures étudiées par radiocristallographie, leur caractéristique commune consiste en ce que la surface interne de la cavité en question est constituée, de préférence, par des résidus non polaires. Grâce aux interactions hydrophobes, les résidus polaires se trouvent à la surface externe du globule. L'intérieur non polaire de la molécule protéique possède une permittivité diélectrique faible, ce qui favorise les interactions électriques. L'enzyme n'est pas seulement un réactif spécifique, mais aussi un milieu de réaction. Perutz écrivait : « On peut se demander, pourquoi une réaction chimique qui exige normalement des solvants organiques puissants ou des bases et acides forts, est possible en solution aqueuse au voisinage du pH neutre, lorsqu'elle se déroule en présence de catalyseurs enzymatiques. Les solvants organiques ont sur l'eau l'avantage d'assurer un milieu à faible permittivité, où des interactions électriques fortes entre réactifs sont possibles. Les régions internes non

polaires des enzymes pourvoient la cellule vivante d'équivalents des solvants organiques employés par le chimiste ».

Toutes ces hypothèses n'ont qu'un caractère qualitatif, ne sont que des modèles approchés. La vraie théorie physique de la catalyse enzymatique n'existe encore pas. On pourra y parvenir en suivant les chemins qui seront décrits ci-après.

§ 6.5. Physique de l'interaction enzyme-substrat

La singularité physique de la catalyse enzymatique est liée avant tout au rôle du globule, dont la taille est supérieure d'un ordre de grandeur à celle du substrat. La question se pose naturellement de savoir, quelle est la cause de la grande efficacité de ce système particulier dans le cas d'une transformation chimique opérée en milieu aqueux, sous la pression normale et à la température physiologique.

La molécule de substrat sorbée par le site actif passe de l'entourage aqueux dans l'entourage formé de résidus acides aminés. Le substrat se retrouve dans un entourage à faible permittivité diélectrique qui rend possibles des interactions électriques fortes entre les réactifs et les groupements polaires de l'enzyme. En développant l'idée « enzyme en tant que solvant», Perutz arrive à la conclusion que les interactions électrostatiques apportent la plus grande contribution à l'énergétique de la catalyse enzymatique, i.e. à la diminution de l'énergie d'activation que l'enzyme provoque. L'enzyme se distingue de la solution aqueuse par le fait que son site actif renferme des dipôles à orientation fixe par rapport aux groupements chargés du substrat, même si le champ de ces charges est faible. Par suite de cette orientation les enzymes peuvent stabiliser les paires d'ions et autres répartitions de charges d'une façon beaucoup plus efficace que l'eau. L'attraction électrostatique est faible en solution aqueuse, car toute force créée par le rapprochement de charges contraires se trouve compensée par une réorientation des dipôles du solvant. Une telle réorientation est impossible dans l'enzyme. Le calcul quantitatif pour la lysozyme, effectué sur cette base, a permis d'estimer la diminution de l'énergie d'activation de la réaction catalysée en accord avec l'expérience.

Il est hors de doute que les interactions électrostatiques ont une grande importance pour la catalyse enzymatique, surtout dans le cas des réactions ioniques. Mais la lysozyme est, dans ce sens, un enzyme spécifique; le calcul mentionné ne peut donc avoir une valeur universelle.

Le globule protéique est un système dynamique. Il y a eu quelques tentatives remarquables de donner une interprétation physique au comportement d'un tel système lors de son interaction avec le substrat.

Il est évident que l'énergie que l'enzyme peut dépenser pour accélérer une réaction (abaisser la barrière d'activation) ne peut avoir qu'une seule origine : c'est une partie de l'énergie libre dégagée lors de la sorption du substrat sur l'enzyme. Supposer que l'enzyme accumule de l'énergie thermique du milieu pour l'utiliser dans la réaction équivaudrait à reconnaître l'existence d'un moteur à mouvement perpétuel de deuxième genre. Ainsi, l'énergie est dégagée lors de la sorption du substrat. Une hypothèse a été proposée, selon laquelle cette énergie se transformerait en énergie des vibrations élastiques du globule qui se comporterait comme une goutte de liquide. Les fréquences de ces vibrations correspondent à la région hypersonique : jusqu'à 10^{13} s^{-1}. Les ondes stationnaires dans la goutte peuvent former un antinœud dans la région du site actif et l'énergie des vibrations élastiques peut activer la molécule de substrat. Les estimations quantitatives fondées sur cette idée ont montré que l'énergie des vibrations élastiques du globule pouvait effectivement atteindre 20 à 40 kJ/mol, assurant une baisse sensible de la barrière effective d'activation.

Cette hypothèse est séduisante, mais on n'a pu encore la prouver. On ne sait pas encore, non plus, quelle est la vitesse de dissipation de l'énergie élastique vers le milieu ambiant.

Nous invoquerons quand même une évaluation simple de l'accélération de la réaction qui part de l'hypothèse sur la transformation de l'énergie de sorption en celle du CES. Supposons que la correspondance de structure enzyme-substrat qui existe dans le CES met la protéine et la petite molécule en un état tendu (« *estrapade* »). Soient l_0 la longueur de la molécule non étendue de substrat et l la longueur de la cavité de l'enzyme où le substrat est rentré. Les variations de la longueur des molécules de substrat et d'enzyme seront respectivement égales à x et à y. Alors $x + y = l - l_0$ et la condition d'égalité des forces élastiques prend la forme

$$k_S x = k_E y, \tag{6.39}$$

où k_S et k_E sont les coefficients d'élasticité du substrat et de l'enzyme. On trouve

$$x = \frac{l - l_0}{1 + k_S/k_E}, \quad y = \frac{k_S}{k_E}\frac{l - l_0}{1 + k_S/k_E}. \tag{6.40}$$

L'énergie élastique du substrat qui détermine l'abaissement de l'énergie d'activation s'écrit

$$\Delta E = \frac{1}{2} k_S x^2 = \frac{1}{2} k_S \left(\frac{l - l_0}{1 + k_S/k_E}\right)^2. \tag{6.41}$$

L'ordre de grandeur de k_E correspond au produit de la dimension linéaire du globule par le module d'élasticité $L\varepsilon$. Pour la protéine

$L \approx 5$ nm, $\varepsilon \sim 10^3$ J·cm^{-3}. Par conséquent, $k_E \approx 5 \cdot 10^{-2}$ N/cm. La plus grande énergie de déformation élastique se concentre dans le point le plus vulnérable de la molécule de substrat. La déformation des angles de valence est bien plus aisée que celle des liaisons de valence. D'autre part, l'énergie accumulée au niveau des degrés de liberté angulaires de la molécule peut passer sur la liaison de valence en abaissant l'énergie d'activation de sa rupture. Le coefficient d'élasticité k_S correspondant aux oscillations de déformation basse fréquence ($\nu \sim 10^{13}$ s^{-1}) vaut près de 0,15 N/cm^{-1}. Posons que $\Delta E = 31{,}5$ kJ/mol (lorsque l'énergie d'activation se voit diminuer de cette quantité, la vitesse de la réaction se trouve multipliée par 10^5). Alors $x \approx 0{,}08$ nm, $y \approx 0{,}23$ nm, l'énergie élastique de l'enzyme $^1/_2\ k_E y^2 \approx 88$ kJ/mol. L'énergie totale consommée lors de la sorption pour assurer la déformation élastique est donc égale à 171 kJ/mol. Cette valeur n'est pas trop élevée, car n'oublions pas que la sorption s'effectue par une fixation en plusieurs points, i.e. par formation de plusieurs liaisons chimiques et faibles entre l'enzyme et le substrat. L'énergie de sorption observée est la différence entre l'énergie de sorption réelle et l'énergie de déformation élastique de l'enzyme et du substrat.

Le modèle « d'estrapade » considéré est statique. Si l'on suppose que le système élastique est dynamique et qu'il y a une résonance des vibrations des molécules de substrat et d'enzyme, la même accélération de la réaction serait atteinte avec une énergie élastique moyenne quatre fois moins importante que dans le cas statique, puisque les battements font doubler de façon périodique l'amplitude des vibrations.

Ce modèle concret représente les vibrations des noyaux atomiques qui résultent de la formation d'un CES, i.e. de l'interaction enzyme-substrat. Au cours de cette interaction on voit varier les états des couches électroniques du substrat et des groupements atomiques du site actif. Les couches électroniques subissent une perturbation due aux interactions dans le CES. La transformation des substrats en produit est un processus chimique: processus, au cours duquel il y a changement d'état des couches électroniques de la molécule. Ainsi que dans toute autre réaction chimique, on observe des déplacements de noyaux atomiques. Parmi les mouvements des noyaux atomiques ce sont les vibrations déformationnelles de basse fréquence et les rotations autour de liaisons individuelles (changements de conformation) qui exigent la moindre énergie. Nous avons déjà considéré (au § 6.4) les variations conformationnelles dans le CES. Dans le cas de la catalyse enzymatique le plus grand intérêt revient aux interactions des degrés de liberté électroniques et conformationnels: *interactions électrono-conformationnelles* (IEC). Les IEC ont été étudiées dans les travaux de Volkenstein, Blumenfeld, Tchernavski, Dogonadzé et col.

§ 6.6. Interactions électrono-conformationnelles

Pour mieux faire comprendre la nature des IEC, nous utiliserons un modèle spectaculaire des interactions électrons-noyaux atomiques dans une boîte de potentiel à parois mobiles infiniment hautes. Cette boîte simule l'ensemble des noyaux atomiques de la molécule ou de sa partie fonctionnelle (fig. 6.11). Les électrons se trouvent à l'intérieur de la boîte, $2n$ électrons occupant n niveaux. Les valeurs possibles de l'énergie des électrons à l'intérieur de la boîte sont faciles à calculer, si l'on applique la représentation des ondes stationnaires de de Broglie avec des nœuds sur les parois. L étant la largeur de la boîte, les ondes stationnaires ont les longueurs d'onde

$$\lambda = 2L/n, \; n = 1, 2, 3, \ldots \qquad (6.42)$$

La vitesse de l'électron dans la boîte est déduite de la relation de de Broglie (m_e étant la masse de l'électron):

$$v = \frac{h}{m_e\lambda} = \frac{nh}{2m_eL}. \qquad (6.43)$$

A l'intérieur de la boîte l'énergie de l'électron est égale à son énergie cinétique

$$E = \frac{m_e v^2}{2} = \frac{n^2h^2}{8m_eL^2}. \qquad (6.44)$$

L'électron exerce sur la paroi une pression, dont la force est égale à

$$f = \left|\frac{dE}{dL}\right| = \frac{n^2h^2}{4m_eL^3}. \qquad (6.45)$$

A l'équilibre ces forces sont compensées par les interactions extérieures par rapport à la boîte. L'équilibre n'est rompu que par une excitation des électrons du système ou par une augmentation de leur nombre. Dans les deux cas la pression monte. Les parois de la boîte, qui ne sont plus en équilibre, se déplacent pour passer dans une nouvelle position d'équilibre à une distance plus grande $L + \Delta L$. En d'autres termes, le travail de déplacement des noyaux $f\Delta L$ est effectué aux dépens de l'énergie des électrons: selon (6.44), l'énergie électronique diminue, lorsque L augmente.

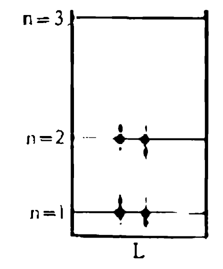


Fig. 6.11. Electrons dans la boîte de potentiel

Si l'on considère un puits de potentiel parabolique et non rectangulaire (modèle de l'électron en tant qu'oscillateur harmonique), on démontre aisément, comment les IEC abaissent la barrière d'activation (fig. 6.12). L'élargissement de la parabole sous l'effet de la pression supplémentaire correspond à une réduction du coefficient

d'élasticité pour l'oscillateur. Le point d'intersection avec la seconde parabole correspondant à l'état final du CES, se déplace et son ordonnée qui représente l'énergie d'activation, baisse. Il est possible de montrer qu'une diminution considérable de l'énergie d'activation (une accélération importante de la réaction) est atteinte, même si le rendement du système est petit.

Toutes ces considérations n'ont qu'une valeur d'illustration. Elles montrent toutefois que l'énergie de l'excitation électronique se transforme en travail de déplacement des noyaux atomiques, i.e. en énergie conformationnelle. La réaction s'en trouve accélérée.

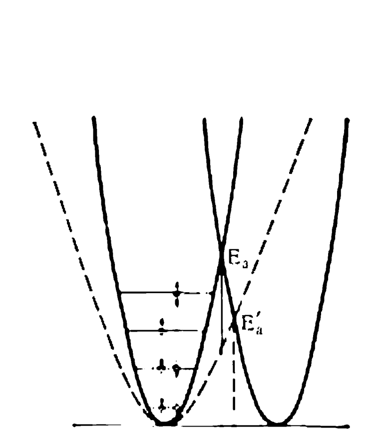


Fig. 6.12. Abaissement de la barrière d'activation par IEC

1)
2)
3)

Fig. 6.13. Effet de complémentarité: *1*) profil de l'énergie libre chimique, *2*) profil de l'énergie libre conformationnelle, *3*) profil total

Lumry et Biltonen ont supposé que le profil de l'énergie libre conformationnelle le long de la coordonnée réactionnelle était complémentaire du profil de l'énergie libre chimique (électronique) (fig. 6.13). Le résultat en est que, dans le profil total, les barrières d'activation deviennent plus basses.

Dogonadzé et col. ont développé une approche quantomécanique plus rigoureuse des IEC. La résolution du problème (qui consiste à calculer la probabilité de transformation du substrat en produit) suppose la détermination de la surface de potentiel des états électroniques du système, de leurs dépendances avec les positions des noyaux atomiques. Le *principe de Franck-Condon* joue un rôle clef dans le cas des réactions non adiabatiques de transfert des électrons et des atomes, i.e. des réactions qui s'accompagnent de déplacements conformationnels de noyaux. Le mouvement des noyaux étant beaucoup plus lent que le mouvement des électrons, la probabilité d'une réaction n'est non nulle que lorsque les niveaux électroniques des états initial et final sont égalisés grâce aux mouvements conformationnels. La figure 6.14 représente le schéma correspondant (Q est la coordonnée conformationnelle). Le réarrangement électronique est précédé par un mouvement compliqué de Q_{0i} à Q^* à la surface d'énergie

potentielle. Une fois les électrons réarrangés dans la région d'intersection des surfaces, le système passe dans un état conformationnellement excité bien éloigné de l'état d'équilibre, en se relaxant ensuite vers un nouvel état d'équilibre; on voit s'effectuer la transition $Q^* \to Q_{0f}$. Les IEC déterminent la cinétique du processus.

Dans le cadre du calcul théorique les paramètres du système (CES avec le solvant qui l'entoure) peuvent être représentés par la somme des oscillations harmoniques des noyaux. On trouve l'énergie du sous-système nucléaire (conformationnel) dans ses états initial et final. Les oscillateurs conformationnels

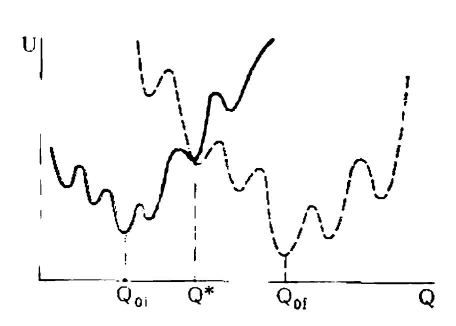


Fig. 6.14. Schéma d'une transition électrono-conformationnelle

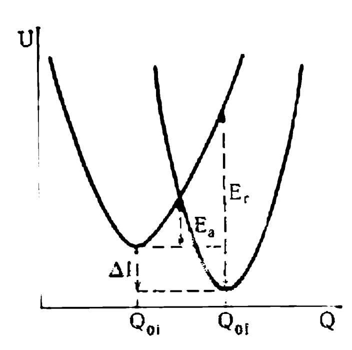


Fig. 6.15. Paramètres de la transition électrono-conformationnelle

sont lents, leur énergie est de loin inférieure à l'énergie thermique: $\hbar\omega \ll kT$. A la différence des oscillateurs quantomécaniques (électroniques), ce sont des oscillateurs classiques. La théorie fournit l'expression de la probabilité de transition état initial-état final par unité de temps. Cette expression exponentielle dépend, selon Arrhenius, de la somme de l'énergie libre de réaction et de l'énergie de réorganisation du sous-système conformationnel et du solvant. Le sens de l'énergie de réorganisation conformationnelle est expliqué par la figure 6.15 (Q_{0i} et Q_{0f} sont les coordonnées classiques d'équilibre de l'état initial et de l'état final du système, E_a est l'énergie d'activation, E_r l'énergie de réorganisation conformationnelle, ΔI la chaleur de réaction). On voit donc que le système se déplace le long d'une série de coordonnées classiques avant d'atteindre la région d'intersection des surfaces de potentiel avec la probabilité indiquée. Le temps de séjour du système dans la région de transition est fonction de la fréquence effective du mouvement et de l'énergie de réorganisation. C'est durant ce temps que le système électronique passe de l'état initial à l'état final.

La théorie, dont nous venons de donner une description sommaire, a un contenu physique clair et rigoureux. Mais les calculs quantitatifs fondés sur cette théorie sont très compliqués, demandant la connaissance de nombreux paramètres. Il est donc difficile de comparer cette théorie avec l'expérience.

Le résultat général des IEC consiste en ce que la réorganisation électronique au cours d'une réaction enzymatique est liée à un changement de la conformation de la protéine. Il est possible d'exprimer cette situation en termes de la physique du solide. Un déplacement de l'électron ou de la densité électronique dans la macromolécule

provoque une réorganisation conformationnelle. On peut l'interpréter comme une excitation des phonons ondes longues: le système « électron + déformation de macromolécule » se trouve ainsi similaire à un polaron. Appelons ce système *conformon.*

A la différence du *polaron*, le conformon n'est pas une vraie quasi-particule capable de se déplacer à grande distance sans dissipation d'énergie. La dissipation rapide est déterminée par l'hétérogénéité et l'apériodicité du globule. Toutefois, pour réaliser un processus enzymatique, il suffit que la transformation conformationnelle n'engage que quelques liaisons peptidiques. Le réarrangement conformationnel ultérieur du globule peut ne plus être déterminé par les IEC, mais par la coopérativité de la macromolécule.

On peut obtenir une information expérimentale sur les IEC en étudiant les variations des propriétés chimiques (électroniques) du biopolymère provoquées par un changement du ligand ou du cofacteur et en observant les variations des propriétés conformationnelles de la macromolécule entière qui en découlent. Une telle étude a été effectuée pour les systèmes aspartate-aminotransférase (AAT)-ligand (cofacteur). On a examiné la dénaturation, dans une solution d'urée, de l'apoenzyme, de l'holoenzyme normal et d'une série de complexes formés par l'apoenzyme avec différentes variétés chimiques de coenzyme. Les isothermes de la dénaturation se sont montrées sensiblement dépendantes de la nature du coenzyme. Cela veut dire que les changements électroniques dans le site actif produisent un effet considérable sur les propriétés conformationnelles de la protéine entière. L'analyse quantitative des résultats obtenus et la comparaison du processus enzymatique catalysé par l'AAT avec la réaction dans un système modèle congruent ont montré que le système enzymatique se caractérise par une égalisation des niveaux énergétiques des différentes formes intermédiaires et par un abaissement des barrières d'activation. C'est là que se manifeste la complémentarité des profils des énergies libres chimique (électronique) et conformationnelle (p. 210). La complémentarité est due aux IEC.

On applique efficacement au problème des IEC les méthodes qualitatives de chimie quantique qui permettent une représentation concrète de la couche électronique du substrat soumis à l'action perturbatrice des groupements du site actif. Les modèles qualitatifs qui permettent de comprendre le sens des phénomènes observés et d'estimer les ordres de grandeur des paramètres caractéristiques (énergie d'activation, etc.), présentent aujourd'hui le plus grand intérêt dans le cadre de la physique des enzymes.

Les *métallo-enzymes* et, particulièrement, les enzymes contenant comme cofacteurs des ions *métal de transition*, constituent un objet important pour l'étude des IEC. Ces ions sont des marqueurs bien pratiques, dont le comportement (notamment, le changement de l'état électronique) est facile à étudier par les techniques de spectro-

scopie optique, de RPE, etc. En même temps, l'état électronique du métal d'un métallo-enzyme influence beaucoup les propriétés conformationnelles de la protéine. L'état du métal est à son tour fonction de l'environnement protéique. Vallee a trouvé des écarts considérables des propriétés électroniques des métaux de transition présents dans les enzymes par rapport à leurs propriétés dans les complexes bas-moléculaires. L'ion métallique d'une protéine présente un état tendu, « *entatique* ». Cela relève déjà du domaine de la chimie biominérale. Maintenant nous allons considérer les propriétés de quelques métalloprotéines (hémoglobine et myoglobine, § 6.8), ainsi que les processus de transfert d'électron dans les métallo-enzymes de la chaîne respiratoire, les *cytochromes*. Nous reprendrons l'examen des IEC au § 13.4.

§ 6.7. Propriétés coopératives des enzymes

La cinétique stationnaire des réactions enzymatiques diffère souvent de la cinétique de Michaelis-Menten (p. 190). La courbe représentant la vitesse de réaction v en fonction de la concentration

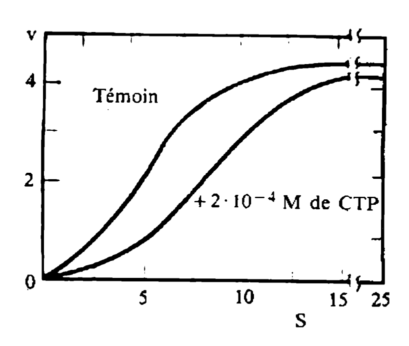


Fig. 6.16. Courbe v (S) pour l'aspartate transcarbamylase. En abscisses, la concentration en aspartate, 10^{-3}mol/l

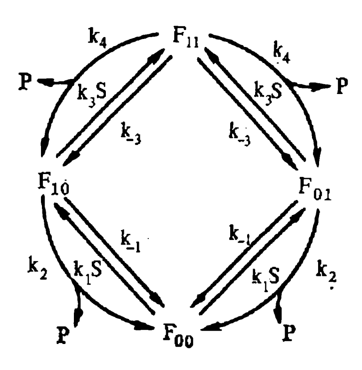


Fig. 6.17. Schéma de la réaction avec un enzyme composé de deux sous-unités

du substrat S et/ou de la concentration de l'effecteur, présente des inflexions, des maximums, des paliers. La figure 6.16 montre à titre d'exemple la courbe v (S) pour l'*aspartate transcarbamylase* (S est l'aspartate) en l'absence et en présence de l'effecteur (CTP). Dans le premier cas la courbe a une forme en S et non hyperbolique.

Usuellement, on explique ces particularités en évoquant la structure quaternaire de l'enzyme et les interactions des sous-unités. Ainsi, le comportement de l'enzyme est coopératif: l'affinité pour le substrat et l'activité catalytique d'une sous-unité donnée (proto-

mère) dépendent des états des autres sous-unités ayant ou non fixé le substrat.

Examinons un modèle simple de molécule d'enzyme qui comporte deux sous-unités identiques en interaction. Chacune possède un site actif. Le processus stationnaire est schématisé par la figure 6.17. La molécule d'enzyme peut exister dans trois états: F_{00} (les deux sites sont libres), $F_{01} = F_{10}$ (un site est occupé par le substrat, l'autre libre) et F_{11} (les deux sites occupés par le substrat). Les équations de cinétique stationnaire ont la forme (cf. fig. 6.17):

$$\begin{aligned} \dot{F}_{00} &= -2k_1SF_{00} + 2(k_{-1}+k_2)F_{10} = 0, \\ 2\dot{F}_{10} &= 2k_1SF_{00} - 2(k_{-1}+k_2+k_3S)F_{10} + 2(k_{-3}+k_4)F_{11} = 0. \\ \dot{F}_{11} &= 2k_3SF_{10} - 2(k_{-3}+k_4)F_{11} = 0, \end{aligned} \qquad (6.46)$$

alors que

$$F_{00} + 2F_{10} + F_{11} = E = \text{const.} \qquad (6.47)$$

La vitesse de formation du produit est donnée, conformément à la figure 6.17, par

$$v = 2k_2F_{10} + 2k_4F_{11}. \qquad (6.48)$$

A l'aide des équations (6.46) et (6.47) on trouve

$$v = 2k_2ES\frac{\alpha S + \beta K}{S^2 + 2\beta KS + \beta K^2}; \qquad (6.49)$$

où $\alpha = k_4/k_2$, $\beta = K'/K$, $K = (k_{-1} + k_2)/k_1$, $K' = (k_{-3} + k_4)/k_3$.

La coopérativité, i.e. l'interaction de deux sites actifs, est exprimée par la différence qui existe entre α et/ou β et l'unité. En effet, lorsque $\alpha = \beta = 1$,

$$v = 2k_2ES\frac{K+S}{(K+S)^2} = \frac{v_{\max}S}{K+S}, \qquad (6.50)$$

la cinétique étant celle de Michaelis-Menten. Par contre, lorsque cette condition n'est pas remplie, la courbe $v(S)$ peut présenter un point d'inflexion, un maximum ou bien les deux à la fois. Selon la formule (6.49), les points d'inflexion sont possibles pour les conditions suivantes

$$\alpha < 0{,}5 \text{ et pour toute valeur de } \beta,$$

$$1 > \alpha > 0{,}5 \text{ et } \alpha/(2\alpha - 1) > \beta > \alpha^2/(2\alpha - 1),$$

$$\alpha > 1 \text{ et } \alpha^2/(2\alpha - 1) > \beta > \alpha(2\alpha - 1).$$

Le maximum ne peut exister que dans le cas où $\alpha < 0{,}5$, indépendemment de la valeur de β.

Le modèle présenté exprime la *coopérativité directe* : les constantes de vitesse sont différentes pour les états du système, où le substrat occupe un ou deux sites.

La fonction d'équilibre $\overline{Y}$ qui exprime la saturation de l'enzyme en substrat pour le modèle à deux sites que nous venons de considérer, a la forme suivante :

$$\overline{Y} = \frac{2F_{10}+2F_{11}}{2(F_{00}+2F_{10}+F_{11})} = \frac{S^2+\beta KS}{S^2+2\beta KS+\beta K^2}. \tag{6.51}$$

L'expression de $\overline{Y}(S)$ prend la forme de l'isotherme d'adsorption de Langmuir, lorsque $\beta = 1$. Pour $\beta \neq 1$, la courbe $\overline{Y}(S)$ peut présenter une inflexion, mais non pas un maximum.

Ainsi, la présence de singularités sur les courbes $v(S)$, $\overline{Y}(S)$ dans les conditions stationnaires (d'équilibre) est un indice de la coopérativité. Toutefois, l'absence de ces singularités ne veut nullement dire que la coopérativité est absente.

Un autre modèle, de *coopérativité indirecte*, a été proposé par Monod, Wyman et Changeux (*modèle MWC*). La molécule protéique y est simulée à l'aide d'un oligomère comportant deux ou plusieurs sous-unités identiques (protomères) qui occupent des positions spatiales équivalentes. Cela confère à la molécule une certaine symétrie. Sa structure peut être isologue ou hétérologue ; dans ce dernier cas l'oligomère peut être plus long (fig. 6.18). A chaque ligand (substrat ou effecteur) correspond un site actif du protomère.

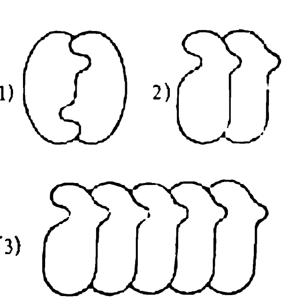


Fig. 6.18. Structures possibles des dimères isologue (*1*) et hétérologue (*2*), ainsi que du polymère hétérologue (*3*)

On suppose que l'oligomère entier peut présenter deux ou plusieurs états conformationnels. L'affinité pour le ligand varie suivant l'état de l'oligomère. Un tel système est coopératif. Sans porter atteinte à la généralité, considérons un dimère pouvant présenter deux états que nous désignerons par R et T. Dans chacun de ces états le dimère est capable de fixer 0, 1 ou 2 molécules de ligand S. Par conséquent, le nombre d'états différents du dimère s'élève à 6 : R_{00}, $R_{10} = R_{01}$, R_{11}, T_{00}, $T_{10} = T_{01}$, T_{11}. Les conditions d'équilibre ont la forme

$$T_{00} = LR_{00},$$

$$R_{10} = 2R_{00}S/K_R, \quad R_{11} = {}^1/_2 R_{10}S/K_R = R_{00}S^2/K_R^2, \tag{6.52}$$

$$T_{10} = 2T_{00}S/K_T, \quad T_{11} = {}^1/_2 T_{10}S/K_T = T_{00}S^2/K_T^2.$$

Ici K_R et K_T sont les constantes de dissociation pour S dans les états R et T, L est la constante d'équilibre pour la transition $R \rightleftarrows T$ en l'absence de S. La concentration totale de l'enzyme est constante :

$$R_{00} + R_{10} + R_{11} + T_{00} + T_{10} + T_{11} = E. \tag{6.53}$$

La fonction de saturation de l'enzyme en substrat est de la forme

$$\bar{Y} = \frac{R_{10}+2R_{11}+T_{10}+2T_{11}}{2(R_{00}+R_{10}+R_{11}+T_{00}+T_{10}+T_{11})} = \frac{K_R(1+Lg)(1+Lg^2)^{-1}S+S^2}{K_R^2(1+Lg)(1+Lg^2)^{-1}+2K_R(1+Lg)(1+Lg^2)^{-1}S+S^2}, \tag{6.54}$$

où $g = K_R/K_T$. La courbe $\bar{Y}(S)$ possède une inflexion. Lorsque $g = 1$ ou lorsque L tend vers zéro ou vers l'infini, la coopérativité disparaît et la dernière relation se transforme de nouveau en expression pour l'isotherme de Langmuir

$$\bar{Y} = \frac{S}{K_R+S}. \tag{6.55}$$

L'expression correspondante pour la vitesse de la réaction de transformation du substrat, déduite des conditions d'équilibre, a la forme

$$v = 2Ek\frac{1+\varkappa Lg^2}{1+Lg^2}\,\frac{K_R(1+\varkappa Lg)(1+\varkappa Lg^2)^{-1}S+S^2}{K_R^2(1+Lg)(1+Lg^2)^{-1}+2K_R(1+Lg)(1+Lg^2)^{-1}S+S^2}, \tag{6.56}$$

où k est la constante de vitesse pour les états R_{10} et R_{11} et $\varkappa k$ la constante de vitesse pour les états T_{10} et T_{11}.

Dans le modèle MWC la coopérativité est indirecte, car la fixation d'un ligand provoque un déplacement de l'équilibre des conformations. Si l'on étend l'équation (6.54) à un système à n protomères, on a

$$\bar{Y} = \frac{Lgx(1+gx)^{n-1}+x(1+x)^{n-1}}{L(1+gx)^n+(1+x)^n}, \tag{6.57}$$

où $x = S/K_R$.

Pour $g \ll 1$ et L et $\varkappa$ pas trop grands, les formules (6.54) et (6.56) pour le dimère prennent la forme

$$\bar{Y} \approx x\frac{1+x}{L+(1+x)^2}, \tag{6.58}$$

$$v \approx 2kx\frac{1+x}{L+(1+x)^2}. \tag{6.59}$$

Supposons que le dimère est soumis non seulement à l'action du substrat S, mais aussi à celle d'un inhibiteur I et d'un activateur A et que chacun des deux protomères renferme trois sites actifs : un pour S, un pour I et un pour A. Considérant, pour simplifier, que le dimère ne fixe I que dans l'état T et A que dans l'état R, on ob-

tient la fonction de saturation de l'enzyme en substrat pour $g \ll 1$:

$$\overline{Y} \approx x \frac{1+x}{L'+(1+x)^2}, \tag{6.60}$$

où $L' = L\,(1 + I/K_I)^2 (1 + A/K_A)^{-2}$. L'inhibiteur fait croître la coopérativité indirecte, l'activateur la réduit.

Si la coopérativité est positive (l'addition du ligand rend l'enzyme plus actif), les modèles de coopérativité directe et indirecte

Fig. 6.19 Schéma d'une rétroaction allostérique

peuvent conduire aux résultats équivalents. Toutefois, à la différence du modèle MWC, le modèle de coopérativité directe peut également décrire la coopérativité négative, i.e. la diminution de l'affinité pour le ligand à mesure de la saturation des sites actifs (Koshland).

Umbarger a découvert, en 1956, l'existence de réactions enzymatiques consécutives, dans lesquelles le métabolite final influe sur l'activité de l'enzyme catalysant la première réaction de la série. Aujourd'hui on connaît une multitude de tels systèmes dits *allostériques* (ce qui veut dire, en grec, « d'un autre espace »). On connaît, notamment, des cas d'inhibition, dont la cinétique est proche de celle de l'inhibition compétitive, bien que la structure d'un inhibiteur allostérique soit différente de celle du substrat. Ainsi, l'enzyme ATC (aspartate transcarbamylase) catalyse le premier chaînon de la série de transformations conduisant à la synthèse du CTP. Ce produit final de la chaîne réactionnelle inhibe l'ATC (fig. 6.19). L'utilité de ce système est évidente.

Lorsque le métabolite final est immédiatement consommé dans les réactions suivantes, le système entier fonctionne. Mais, dès qu'il se forme un excès de métabolite final, tout le système cesse de fonctionner.

L'*allostérie* est un phénomène important qui assure la régulation de l'action des enzymes au niveau moléculaire. L'existence d'une régulation des processus biochimiques témoigne de la présence de voies de transmission directe et en retour pour l'information appropriée. Dans une cellule, la transmission d'information est la transmission de signaux chimiques (molécules et ions). La cellule renferme des substances, dont la réactivité est fonction de l'effet des signaux moléculaires. Ce sont donc les enzymes, sources de ces signaux, qui se trouvent soumis aux rétroactions chimiques. Ainsi on conclut logiquement à l'existence de systèmes enzymatiques de régulation. Nous avons déjà dit qu'il est possible de considérer l'enzyme comme un convertisseur de signaux : le signal d'entrée (le substrat) y est transformé en signal de sortie (le produit). Si le signal de sortie influe sur le fonctionnement du convertisseur, c'est qu'il y a une rétroaction (feed-back), positive ou négative, suivant que le produit final active ou inhibe l'effet de l'enzyme.

Comme l'a montré l'étude des enzymes allostériques, ces derniers possèdent une structure quaternaire et une coopérativité. En témoigne la courbe $v(S)$ pour l'ATC, représentée sur la figure 6.16. Le CTP, dont la présence fait disparaître la forme en S de la courbe, est un inhibiteur allostérique. Un autre exemple d'enzyme allostérique est fourni par la thréonine désamynase. La cinétique de la transformation que cet enzyme fait subir à la thréonine peut être représentée par la formule

$$\lg \frac{v}{v_{\max}-v} = n \lg S - \lg K, \tag{6.61}$$

et la cinétique de l'inhibition allostérique par la formule

$$\lg \frac{v}{v_0-v} = \lg K' - n' \lg I. \tag{6.62}$$

Ici v est la vitesse stationnaire, $v_{\max}$ la vitesse maximale, v_0 la vitesse à $I = 0$; K et K' sont des constantes. Pour la cinétique de Michaelis-Menten il faut que $n = n' = 1$. Changeux a déterminé que $n = 1{,}37$ et $n' = 1{,}86$. La coopérativité — l'interaction des sous-unités — explique aisément ces résultats. Nous examinerons des phénomènes analogues dans le paragraphe suivant, sur l'exemple de l'hémoglobine. Il est établi que chaque sous-unité d'un enzyme allostérique possède un site actif pour le substrat et un autre site actif pour l'effecteur allostérique. Parfois on observe des cas plus complexes.

Le fait de posséder une structure quaternaire rend les enzymes

allostériques aptes à se dissocier en sous-unités sous l'action de substrats et d'effecteurs allostériques. On assiste alors à un déplacement de l'équilibre entre les formes oligomères de l'enzyme allostérique. Cela se répercute également sur la cinétique.

Des singularités peuvent également apparaître sur les courbes $v(S)$, $v(I)$ en l'absence d'interactions coopératives grâce aux propriétés conformationnelles déséquilibrées de l'enzyme. Supposons que la molécule d'enzyme, après avoir transformé le substrat en produit, sort de la réaction en gardant son état conformationnel actif.

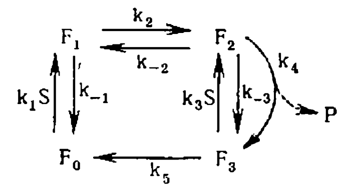


Fig. 6.20. Schéma d'une réaction selon Rabin

Si le temps de relaxation (le temps de retour à l'état non perturbé de départ) est supérieur au temps qui sépare les rencontres enzyme-substrat, ou s'il est du même ordre de grandeur, la cinétique peut simuler la cinétique coopérative. Un tel processus est schématisé sur la figure 6.20. Ici F_0 est la molécule d'enzyme libre de substrat, dans sa conformation initiale; F_1 le complexe enzyme-substrat inactif, F_2 le complexe enzyme-substrat actif, F_3 l'enzyme libre dans sa conformation active. En résolvant les équations correspondantes de cinétique stationnaire, on obtient la vitesse de réaction

$$v = \frac{AS^2 + BS}{CS^2 + DS + K}, \tag{6.63}$$

où A, B, C, D et K sont des combinaisons de constantes cinétiques. L'expression (6.63) est analogue à (6.49), malgré l'absence d'interactions coopératives. Les singularités de la courbe $v(S)$ disparaissent, lorsque $k_3 = 0$ ou $k_5 = 0$. En effet, il y a des cas où les réorganisations conformationnelles des enzymes durent très longtemps: plusieurs minutes, voire plusieurs dizaines de minutes. Ces singularités sur les courbes $v(S)$, telles que les paliers intermédiaires, s'expliqueraient par le déséquilibre des systèmes enzymatiques. Mais, dans la plupart des cas, l'existence d'inflexions et même de maximums est due à l'interaction des sous-unités dans une protéine à structure quaternaire (v. § 6.8).

Nous n'avons examiné ici que des processus enzymatiques relativement simples. Dans les cas plus complexes le calcul devient trop laborieux, même pour l'état stationnaire: on a à résoudre simultanément un nombre d'équations très élevé. Pour ce type de problèmes, on a recours aux algorithmes, notamment à ceux fondés sur

la *théorie des graphes* (Goldstein, Volkenstein). En mathématiques, on appelle graphe un schéma topologique construit avec les points nodaux et les lignes qui les joignent. Au fond, les schémas des figures 6.17, 6.20 sont des graphes. Ce genre d'algorithmes permet d'obtenir les expressions analytiques pour les vitesses de réaction sans avoir à résoudre des équations cinètiques.

Il faut souligner que dans les cas tant soit peu complexes le nombre de constantes de vitesse est tellement important qu'il devient impossible de les déterminer expérimentalement, dans les conditions stationnaires. La cinétique enzymatique non stationnaire et, partant, le mécanisme d'action des enzymes, sont aisés à étudier par les méthodes de *relaxation chimique*, développées par Eigen. Le système est déséquilibré ou mis hors d'état stationnaire par changement rapide d'un paramètre extérieur, après quoi on étudie la cinétique de son rapprochement d'un nouvel état d'équilibre ou stationnaire. Le plus souvent, on utilise à cette fin un saut de concentration ou de température, l'effet de l'ultrason, etc. Il est possible de mesurer les temps de relaxation allant jusqu'à 10^{-10} s.

Examinons une réaction élémentaire à étape unique (S est le ligand):

$$F_0 + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} F_1.$$

L'équation cinétique est de la forme

$$\dot{F}_0 = -k_1 S + k_{-1} F_1. \tag{6.64}$$

On a les écarts suivants par rapport aux concentrations stationnaires $\overline{F}_0$, $\overline{S}$, $\overline{F}_1$: $F_0 = \overline{F}_0 + x_0$, $F_1 = \overline{F}_1 + x_1$, $S = \overline{S} + y$. L'équation (6.64) donne

$$\dot{x}_0 = -k_1 \overline{F}_0 y - k_1 \overline{S} x_0 - k_1 x_0 y + k_{-1} x_1. \tag{6.65}$$

Lorsque la perturbation est petite, on néglige $k_1 x_0 y$. Selon la loi de la conservation de la masse, $x_0 - -x_1 = y$. Par conséquent,

$$\dot{y} = -(k_1 \overline{F}_0 + k_1 \overline{S} + k_{-1})\, y \tag{6.66}$$

ou bien

$$\dot{y} + \tau^{-1} y = 0, \tag{6.67}$$

où $\tau^{-1} = k_1 \overline{F}_0 + k_1 \overline{S} + k_{-1}$. La solution de (6.67) a la forme

$$y = y\,(0) \exp\,(-t/\tau). \tag{6.68}$$

$y\,(0)$ est la valeur de y à l'instant $t = 0$. En mesurant τ pour différentes concentrations $\overline{F}_0$ et $\overline{S}$, on trouve k_1 et k_{-1}.

Ici nous nous sommes servis du procédé ordinaire de linéarisation d'une équation non linéaire (v. § 15.2).

§ 6.8. Myoglobine et hémoglobine

L'hémoglobine (Hb) et la myoglobine (Mb) ne sont pas des enzymes. Leur fonction consiste à fixer de façon réversible l'oxygène moléculaire O_2. La myoglobine sert de dépôt d'oxygène en vue de

son utilisation ultérieure. L'organisme des cétacés qui passent beaucoup de temps sous l'eau, est très riche en Mb. L'hémoglobine, protéine fonctionnelle des érythrocytes, assure le transport de l'oxygène des poumons vers tous les organes et tissus et participe au transport du gaz carbonique dans le sens inverse.

Or, l'étude de ces deux substances fournit une information bien précieuse qui aide à comprendre les propriétés des enzymes ordinaires et allostériques, ainsi que les interactions électrono-conformationnelles. La fixation d'O_2 et d'autres ligands par ces protéines présente une grande analogie avec la fixation du substrat par un enzyme. L'oxygène moléculaire pénètre dans la cavité des molécules de Mb et de Hb, mais, à la différence du substrat, il ne subit aucune transformation chimique. Parfois on donne à ces deux substances le nom d'enzymes « à titre honorifique ».

La myoglobine et l'hémoglobine sont obtenues sous la forme cristalline. Les deux protéines ont été étudiées en détail par radiocristallographie avec une résolution allant jusqu'à 0,28 nm, aussi bien sous la forme oxygénée (MbO_2, HbO_8) que sous la forme déoxygénée (Mb, Hb). La présence dans Mb et Hb de groupements prosthétiques hèmes qui possèdent des propriétés électroniques spécifiques, permet leur étude efficace par spectroscopie, RPE, ainsi qu'en utilisant la susceptibilité magnétique, l'effet Mössbauer (v. p. 148), etc.

La myoglobine ne possède pas de structure quaternaire (p. 122), alors que la molécule de Hb se compose de quatre sous-unités : deux unités α et deux β, dont chacune est analogue, mais non identique, à la molécule de Mb. Par conséquent, Hb possède, contrairement à Mb, des propriétés coopératives : on y observe une *interaction hème-hème.*

L'oxygène et autres ligands se fixent sur l'hème en saturant la sixième valence de coordination de l'atome de fer. La formation de cette liaison provoque toute une série d'événements dans la molécule protéique.

L'hème est une ferroprotoporphyrine (v. fig. 2.14). L'atome Fe, dans l'état « ferro » bivalent (Fe^{2+}), est coordiné à quatre atomes d'azote des groupes pyrroliques d'un noyau porphyrique plan. La cinquième liaison de coordination, perpendiculaire au plan du noyau, joint l'atome de fer à l'imidazole de l'histidine, la sixième valence étant libre ou occupée par un ligand.

L'hémoglobine, la myoglobine et leurs formes oxygénées renferment le ferrohème. Oxydées, Hb et Mb forment des composés à atome de fer trivalent Fe^{3+} (« ferri »).

L'atome Fe est paramagnétique. Le tableau 6.2 donne les caractéristiques des propriétés magnétiques de l'hémoglobine et de ses dérivés dans leurs différents états.

On voit que le ferrohème peut présenter l'état à spin élevé (Hb) ou l'état à bas spin (HbO_8, $Hb(CO)_4$). La fixation du ligand se ré-

Tableau 6.2

Propriétés magnétiques de l'hémoglobine

Composé	Valence	Sixième ligand	Moment magnétique, magnétons de Bohr	Spin
Hémoglobine (Hb)	2	absent	5,2 à 5,5	2
Oxyhémoglobine (HbO_8)	2	O_2	0	0
Carboxyhémoglobine ($Hb(CO)_4$)	2	CO	0	0
Ferrihémoglobine (méthémoglobine)	3	H_2O	5,6 à 5,8	5/2
Hydroxyméthémoglobine	3	OH^-	4,5 à 4,7	1/2, 5/2
Azoture de ferrihémoglobine	3	N_3^-	2,4 à 2,8	1/2
Cyanure de ferrihémoglobine	3	CN^-	2,3 à 2,5	1/2

percute sur le spectre d'absorption dans le visible (fig. 6.21). Le tableau 6.3 regroupe les données correspondantes.

L'interprétation des propriétés magnétiques et spectrales de l'hème est fondée sur l'analyse quantomécanique. Les électrons péri-

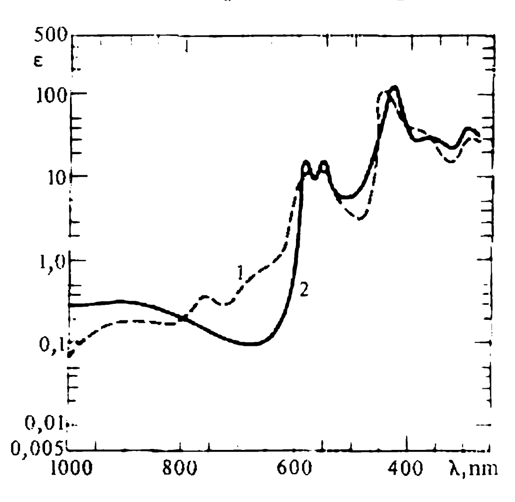


Fig. 6.21. Spectres d'absorption de Hb (*1*) et de HbO_8 (*2*)

phériques de l'atome de fer ont la configuration $3d^6$ pour Fe^{2+} et $3d^5$ pour Fe^{3+} (fig. 6.22). Le calcul théorique part de la théorie du champ des ligands. Les orbitales moléculaires du système sont représentées par des combinaisons linéaires des orbitales de Fe, du cycle porphyrique et des ligands. Le calcul fournit la distribution

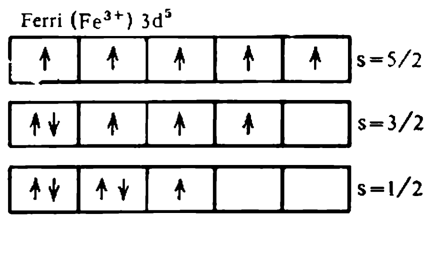
Tableau 6.3

Spectres d'absorption de quelques composés à hème

Composé	Bande α		Bande β		Bande Soret	
	λ, nm	$\varepsilon \cdot 10^{-3}$	λ, nm	$\varepsilon \cdot 10^{-3}$	λ, nm	$\varepsilon \cdot 10^{-3}$
Hème	565	6,1			390	39,6
CO-hème	562	14,6	530	11,9	406,5	147
Hb	555	13,5			430	119
HbO_8	577	14,6	542	13,8	412	135
$Hb(CO)_4$	569	13,4	539	13,4	419	191
Mb	555	12,0			435	114
MbO_2	582	13,1	544	12,7	417	119
MbCO	578	12,3	541	14,1	423	185

D'habitude, on n'appelle pas « bandes α » les bandes ondes longues de l'hème, de l'hémoglobine et de la myoglobine.

de densité électronique et les niveaux d'énergie électronique. Certains problèmes demeurent, cependant, non élucidés: ainsi, il est



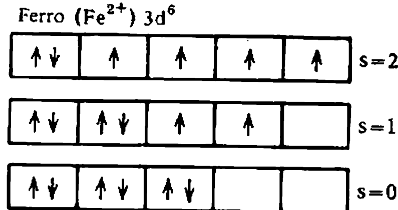


Fig. 6.22. Structure électronique de Fe^{2+} et Fe^{3+}

nécessaire d'examiner l'hème contraint à cinq liaisons de coordination dans la myoglobine et l'hémoglobine.

L'hémoglobine et la myoglobine sont paramagnétiques, ce qui les distingue de la majorité écrasante des autres molécules biologiques. Il faut mentionner à ce propos la *magnétobiologie* qui étudie

l'effet des champs magnétiques sur les phénomènes biologiques. Les champs magnétiques pourraient en principe exercer une influence sur le comportement de l'hémoglobine et de la myoglobine et des cellules correspondantes, ainsi que sur la cinétique des réactions biochimiques faisant intervenir les radicaux libres. Mais aujourd'hui on ne dispose presque pas de données dignes de foi, relatives à l'action du champ magnétique permanent sur les phénomènes biologiques.

Une place à part revient aux bactéries, découvertes récemment dans les tourbières d'Amérique du Nord, qui renferment de la ferroférite $FeO \cdot Fe_2O_3$. Ces bactéries sont capables de s'orienter dans un champ magnétique; on peut les aimanter. D'autre part, aucune raison scientifique ne permet d'attribuer à « l'eau aimantée » un rôle biologique; certains affirment que l'eau ayant traversé un champ magnétique accélérerait la croissance des plantes, posséderait des propriétés bactéricides, etc.

On connaît la structure primaire de l'hémoglobine et de la myoglobine de plusieurs espèces d'animaux, ainsi que d'un grand nombre d'hémoglobines mutantes de l'homme (v. p. 35). Le décodage de la structure spatiale de l'hémoglobine et de la myoglobine, la mise en évidence des variations conformationnelles provoquées par la fixation des ligands, présentent une importance particulière. C'est pour la myoglobine et l'hémoglobine que l'on a étudié avec le plus de détails la relation entre la structure et les propriétés.

La courbe $\overline{Y}(p)$ représentant la saturation de Mb en oxygène moléculaire (p est la pression partielle d'O_2) est semblable à l'isotherme de Langmuir

$$\overline{Y} = \frac{p}{K+p}. \tag{6.69}$$

Par contre, la courbe $\overline{Y}(p)$ pour l'hémoglobine possède une inflexion: elle est d'une forme en S. On peut la décrire par l'*équation de Hill*

$$\overline{Y} = \frac{p^n}{K'+p^n}, \tag{6.70}$$

où K' est une constante et le paramètre $n = 2,8$. Les deux courbes sont représentées sur la figure 6.23 $\left(1 - \overline{Y} = \frac{Kp}{1+Kp};\ 2 - \overline{Y}\frac{Kp^n}{1+Kp^n},\ n = 2,8\right)$.

Le sens physiologique de la courbe en S $Y(p)$ pour l'hémoglobine consiste en ce que l'affinité de Hb pour O_2 diminue au fur et à mesure qu'O_2 se détache. Les variations de la pression partielle d'O_2 dans les tissus ne sont pas importantes. Si l'hémoglobine était caractérisée par une courbe $Y(p)$ hyperbolique (6.69), seule une petite fraction d'O_2 transporté serait détachée dans les tissus et l'organisme étoufferait même dans une atmosphère d'oxygène pur. L'efficacité

du transport respiratoire est régulée, en outre, par la présence du cofacteur 2,3-diphospho-glycérate (DPG) qui réduit l'affinité de Hb pour O_2, ainsi que par l'effet de Bohr.

L'*effet de Bohr*, propre à l'hémoglobine, mais non à la myoglobine, consiste en dépendance de l'affinité de l'hémoglobine pour O_2 avec le pH du milieu. Cette affinité est minimale au voisinage du pH 6 et maximale au voisinage du pH 9. En d'autres termes, les faibles concentrations de protons favorisent la fixation d'O_2, alors que les faibles concentrations d'O_2 favorisent l'addition de protons sur l'hémoglobine. En faisant croître le pH du sang veineux et en augmentant par là son aptitude à absorber le bicarbonate, l'effet de Bohr est à l'origine du mécanisme principal responsable du transport de CO_2 des tissus vers les poumons.

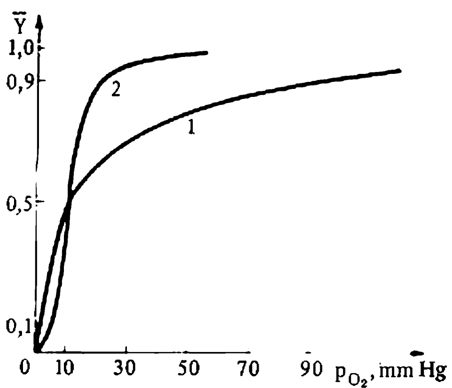


Fig. 6.23. Courbes de saturation en oxygène moléculaire de la myoglobine (*1*) et de l'hémoglobine (*2*)

Le fait que le facteur n dans l'équation de Hill (6.70) n'est pas égal à l'unité et la forme en S de la courbe $Y(p)$ correspondante reflètent l'interaction hème-hème, i.e. l'interdépendance des quatre sous-unités et, par conséquent, la coopérativité de l'addition d'O_2. Les variations d'enthalpie lors de la fixation de la première, de la deuxième, de la troisième et de la quatrième molécule d'oxygène par l'hémoglobine du mouton valent respectivement: $\Delta H_1 = -65{,}9 \pm 3{,}3$, $\Delta H_2 = -47{,}8 \pm 10{,}5$, $\Delta H_3 = -32{,}7 \pm 13{,}8$ et $\Delta H_4 = -36{,}5 \pm 13{,}8$ kJ/mol. Au fur et à mesure de sa fixation l'oxygène est lié de plus en plus solidement.

C'est Perutz qui a pu mettre en évidence, grâce à une étude cristallographique, les événements qui se déroulent dans la molécule d'hémoglobine soumise à l'oxygénation. La molécule d'oxygène se fixe sur l'atome Fe de l'hème. Dans HbO_8 l'atome de fer se trouve dans le plan de l'hème, en son centre. Dans le cas de l'hémoglobine à spin élevé l'atome de fer est distant de ce plan d'environ 0,05 nm, dans la direction du noyau imidazolique de His *F*8. Dans cet état, le nombre de coordination de Fe vaut 5. L'oxygénation fait passer l'atome de fer dans un état à bas spin, tout en augmentant d'une unité le nombre de ligands entourant Fe. Ces changements provoquent des altérations des contacts entre l'hème et les résidus acides aminés de la protéine, assemblés de façon compacte. Autrement dit, l'IEC conduit à un réarrangement des globules protéiques.

15—01676

L'hème est en contact direct avec 60 atomes de la protéine. L'introduction d'un ligand, même aussi petit qu'OH^-, dont le rayon est de 0,15 nm, provoque dans ces conditions une réorganisation conformationnelle dans les sous-unités β de l'hémoglobine. Dans ces sous-unités le groupement γ-CH_3 du résidu Val *E*11 se trouve séparé du groupe OH^- par une distance de 0,25 nm, inférieure à la somme des rayons de Van der Waals. Les globules β de l'hémoglobine n'ont donc aucune place même pour le plus petit des ligands: la distance entre l'hème et Val *E*11 doit augmenter, lors de l'oxygéna-

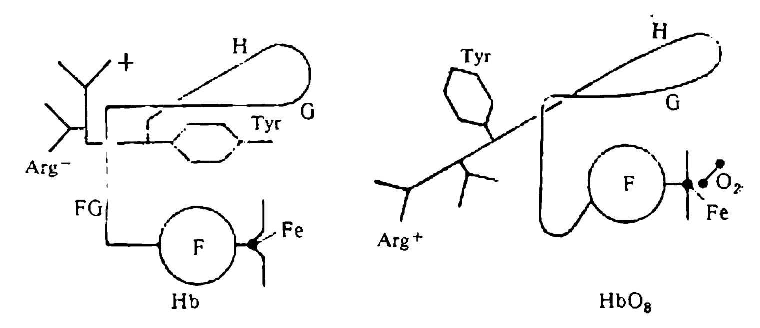


Fig. 6.24. Déplacement de Tyr *HG*2 (140) lors de l'oxygénation

tion, d'environ 0,1 nm. Par contre, les sous-unités α ne présentent pas un tel déplacement, car la largeur de la « poche » est suffisante pour l'insertion du ligand.

Dans HbO_8 les extrémités C-terminales des quatre chaînes peuvent tourner en toute liberté, alors que la liberté de rotation des avant-derniers résidus Tyr (140) n'est que partielle. Par contre, dans l'hémoglobine non oxygénée chacune des extrémités C-terminales est doublement attachée par les ponts salins formés par Arg (141) α_1 avec Asp (126) α_2, Hys (146) β_1 avec Lys (40) α_2 et Asp (84) β_1. Les quatre avant-derniers Tyr sont rigidement fixées au moyen de liaisons de Van der Waals et hydrogène dans les creux entre les hélices *F* et *H*. L'oxygénation de l'hémoglobine provoque un déplacement de l'hélice *F* et la rupture des ponts salins, laissant Tyr (140) sortir de la « poche » entre les hélices *F* et *H*; en même temps, la largeur de la « poche » se trouve diminuée de 0,13 nm dans les chaînes α et de 0,2 nm dans les chaînes β. Ce réarrangement est schématisé sur la figure 6.24. Les réarrangements dans les sous-globules et les ruptures des ponts salins font varier la structure quaternaire. On observe dans les contacts $\alpha_1\beta_1$ et $\alpha_2\beta_2$ des déplacements de 0,1 nm et dans les contacts $\alpha_1\beta_2$ et $\alpha_2\beta_1$ des déplacements de l'ordre de 0,7 nm, ce qui est une valeur très importante. Ces derniers contacts présentent un intérêt tout particulier. Les substitutions de mutation

dans les régions correspondantes affaiblissent notablement l'interaction hème-hème.

Il va de soi que le terme « interaction hème-hème » est une convention. Il ne s'agit nullement d'une interaction entre les hèmes : la distance qui les sépare est trop importante. L'interaction des sous-unités est déterminée par les événements conformationnels, dont le trigger est le déplacement de l'atome Fe vers le plan du cycle porphyrinique, Hys proximale s'en trouvant décalée de 0,075 à 0,095 nm. L'hélice *F* se déplace vers le centre de la molécule en poussant Tyr (140) hors de la cavité entre les hélices *F* et *H*. Tyr déplacée entraîne Arg (141) en rompant ainsi les ponts salins avec la chaîne α située vis-à-vis. Dans les chaînes β la situation est différente. Avant d'atteindre l'atome de fer, le ligand a à « ouvrir » la cavité près de l'hème. La liaison Fe-ligand se forme, l'atome de fer rejoint le plan de l'hème, l'hélice *F* se déplace vers le centre de la molécule en poussant Tyr (145) hors de sa « poche ». Ce résidu entraîne Hys (146) et rompt son pont salin avec Asp (94).

La structure de l'hémoglobine non oxygénée est stabilisée par le DPG qui forme des ponts salins supplémentaires entre les sous-globules β. Lors de l'oxygénation le DPG est éliminé de la molécule.

Selon Perutz, chacune des sous-unités peut présenter soit la conformation *désoxy*, soit la conformation *oxy*. L'addition d'O_2 confère à la sous-unité la conformation *oxy*, mais la structure quaternaire entière demeure *désoxy* tant qu'il n'y a pas fixation de deux molécules d'oxygène. L'oxygénation débute, probablement, par les sous-globules α qui ont assez de place pour accueillir le ligand. Le schéma du processus de la figure 6.25 est le suivant :

$$(\alpha_1^D\alpha_2^D\beta_1^D\beta_2^D)^D \xrightarrow{+O_2} (\alpha_1^O\alpha_2^D\beta_1^D\beta_2^D)^D \xrightarrow{+O_2}$$
$$+O_2\ (\alpha_1^O\alpha_2^O\beta_1^D\beta_2^D)^D \xrightarrow{-DPG} (\alpha_1^O\alpha_2^O\beta_1^D\beta_2^D)^O \xrightarrow{+O_2}$$
$$+O_2\ (\alpha_1^O\alpha_2^O\beta_1^O\beta_2^D)^O \xrightarrow{+O_2} (\alpha_1^O\alpha_2^O\beta_1^O\beta_2^O)^O.$$

Le principe du processus consiste en ce que le groupement hème renforce, grâce à sa construction spécifique, la faible variation du rayon atomique que l'atome de fer subit en passant de l'état à haut spin dans l'état à bas spin, cette variation étant transformée en un déplacement considérable de Hys liée à l'hème. Les événements électroniques se transforment en conformationnels avec toutes les conséquences qui en découlent.

L'énergie d'interaction des sous-unités est de l'ordre de 50 kJ/mol, ce qui correspond à l'énergie de six ponts salins formant les contacts.

L'hémoglobine est tétramère ; elle se décompose en dimères à faibles concentrations. Alors on voit se rompre les ponts salins, la structure quaternaire prenant la conformation *oxy*. Les effets coopératifs sont déterminés par la structure tétramère.

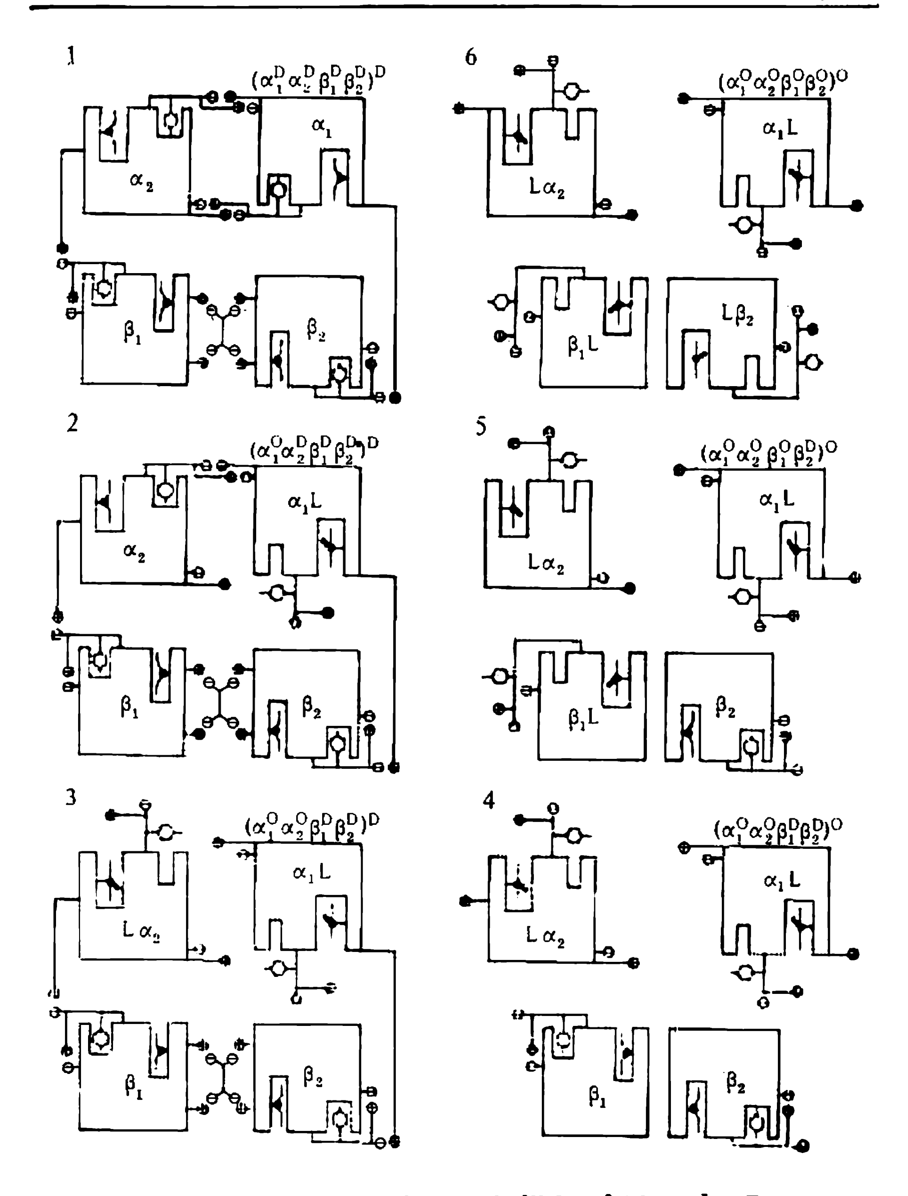


Fig. 6.25. Schéma de l'oxygénation de l'hémoglobine selon Perutz:

1. Hb avec les ponts salins intacts et avec la molécule de DPG « serrée » entre deux chaînes β. *2*. HbO_4. 3. HbO_4. Les chaînes α sont oxygénées au cours des étapes *1-2* et *2-3*. 4. HbO_4 à conformation altérée; le changement conformationnel se produit au cours des étapes *3-4*. 5. HbO_6. 6. HbO_8

La polarimétrie magnétique (§ 5.8) et l'effet Mössbauer (§ 5.3) ont fourni des renseignements précieux sur l'IEC dans l'hémoglobine. La dispersion de rotation magnétique (DRM) et le dichroïsme circulaire magnétique (DCM) sont très sensibles aux particularités de la structure de l'hémoglobine et de la myoglobine, dont les spectres d'absorption sont pratiquement identiques. La figure 6.26

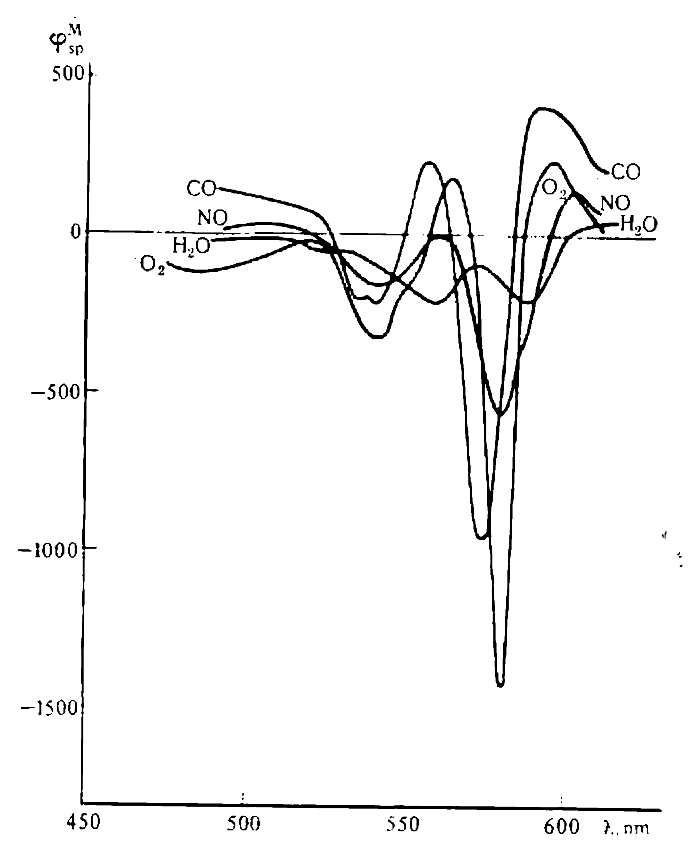


Fig. 6.26. **Courbes de dispersion de la rotation magnétique des complexes**

montre les courbes de DRM pour la myoglobine et ses complexes avec différents ligands. Il s'agit là d'effets électroniques. Leur bonne corrélation avec la stabilité conformationnelle des complexes dénaturés à l'urée constitue une démonstration directe de l'IEC.

La bande α de Mb, presque imperceptible dans le spectre d'absorption, mais observable en DRM et en DCM, est extrêmement sensible à l'interaction hème-hème. La DRM est à peu près la même chez la myoglobine et chez les sous-unités α et β de l'hémoglobine

dans les bandes α et β. Par contre, dans l'hémoglobine tétramère l'effet dans la bande α est deux fois plus grand que dans la bande β (fig. 6.27). La technique de DRM a permis d'étudier la dissociation de l'hémoglobine en ses sous-unités. Il est établi qu'à pH 10-11 les tétramères se dissocient en dimères $\alpha\beta$ non coopératifs.

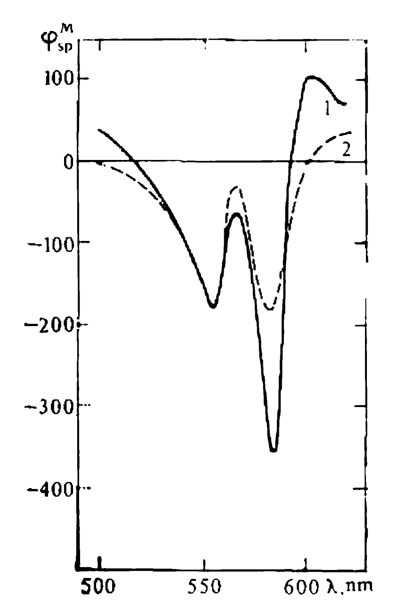


Fig. 6.27. Courbes de DRM pour l'hémoglobine (1) et pour les chaînes α et β isolées (2)

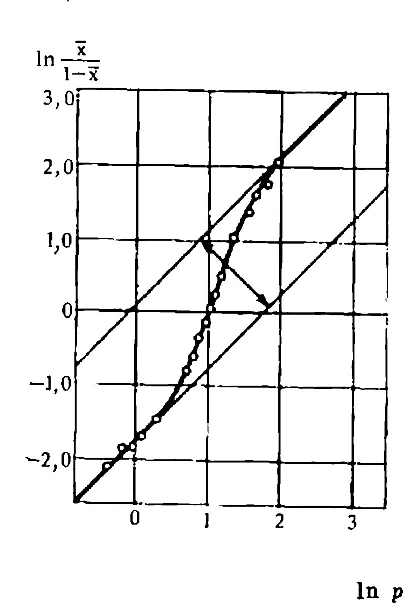


Fig. 6.28. Graphique de Hill pour la saturation en oxygène de l'hémoglobine du cheval

L'effet de Bohr (p. 225) a été interprété du point de vue moléculaire. Lors des transitions conformationnelles *oxy*-Hb $\rightleftarrows$ *désoxy*-Hb on observe un changement de l'entourage de trois paires de bases faibles, tel que ces bases tendent à fixer des protons en se débarrassant d'O_2. Cela est dû aux transferts concrets de résidus acides aminés ionogènes. Dans l'hémoglobine, O_2 et les protons sont dans le même rapport que le substrat et l'effecteur allostérique dans un enzyme allostérique.

Wyman a construit une théorie phénoménologique des fonctions associées pour l'hémoglobine et pour les enzymes allostériques. Admettons qu'une molécule d'enzyme allostérique lie deux ligands X et Y, disposant de q sites actifs pour X et de r sites actifs pour Y. La concentration totale des molécules d'enzyme allostérique s'écrira

$$c = c_0 \sum_{i=0}^{q} \sum_{j=0}^{r} K_{ij} x^i y^j, \tag{6.71}$$

où c_0 est la concentration en molécules libres, x et y sont les concentrations de X et de Y, K_{ij} est la constante d'équilibre pour la réaction

$$M + iX + jY \rightleftarrows MX_iY_j.$$

Les fonctions de saturation s'écrivent

$$Y_X = \frac{\partial \ln \sum\sum K_{ij} x^i y^j}{\partial \ln x},$$
$$Y_Y = \frac{\partial \ln \sum\sum K_{ij} x^i y^j}{\partial \ln y}, \tag{6.72}$$

d'où

$$\left(\frac{\partial \ln Y_X}{\partial \ln y}\right)_x = \left(\frac{\partial \ln Y_Y}{\partial \ln x}\right)_y. \tag{6.73}$$

Il est plus commode de représenter la courbe d'équilibre du ligand non pas par la grandeur Y_X, mais sous la forme de la dépendance $\ln[\bar{x}/(1-\bar{x})]$, où $\bar{x} = Y_X/q$, avec $\ln x$, et d'introduire le paramètre n défini comme suit:

$$n = \frac{d \ln[\bar{x}/(1-\bar{x})]}{d \ln x} = \frac{1}{\bar{x}(1-\bar{x})} \frac{d\bar{x}}{d \ln x}. \tag{6.74}$$

Si tous les sites sont identiques et indépendants les uns des autres, le graphique a la forme d'une droite avec $n = 1$. Dans le cas des interactions stabilisantes, lorsque $(\partial Y_X/\partial \ln x) > q$, n devient supérieur à l'unité. Cela est en accord avec l'équation de Hill (6.70) que l'on peut récrire sous la forme

$$\ln \frac{\bar{x}}{1-\bar{x}} = \ln K + n \ln x. \tag{6.75}$$

La figure 6.28 représente le graphique décrit par (6.75), où $x = p$, pour l'hémoglobine du cheval. Ici $n = 2{,}95 \pm 0{,}05$, l'énergie libre d'interaction $Hb\text{-}O_2$ valant 10,9 kJ/mol. En se servant de la théorie de Wyman, on décrit facilement l'effet de Bohr ($X = O_2$, $Y = H^+$).

L'hémoglobine peut fixer O_2 et CO. A l'état saturé, le coefficient de distribution A ne dépend pas de la pression partielle des deux gaz (*première loi de Haldane*):

$$\frac{[Hb(CO)_4]}{[HbO_8]} = A \frac{p_{CO}}{p_{O_2}}. \tag{6.76}$$

Selon la seconde loi de Haldane, au cours de l'interaction avec un mélange d'O_2 et de CO, la saturation est une fonction de $p_{O_2} + Ap_{CO}$. Cette loi découle de (6.76).

Les propriétés de l'hémoglobine fournissent une démonstration du comportement dynamique des protéines. Les structures tertiaire et quaternaire de l'hémoglobine oscillent rapidement et continuellement entre les conformations *oxy* et *désoxy*. La fixation du ligand provoque un déplacement de l'équilibre conformationnel. C'est donc un cas de l'IEC.

CHAPITRE 7

PHYSIQUE DES ACIDES NUCLÉIQUES

§ 7.1. La biologie moléculaire et la physique

L'objet de la biologie moléculaire est la nature moléculaire des principaux phénomènes vitaux, avant tout de l'hérédité et de la variabilité. A l'origine de ces phénomènes on trouve la structure et les propriétés des acides nucléiques, macromolécules informationnelles. Le devenir de la biologie moléculaire est lié à la découverte du rôle génétique des acides nucléiques et à son décodage. Les *gènes* qui sont des fragments de molécules d'ADN et d'ARN programment la synthèse protéique. Le rôle de ces molécules est « législatif », alors que celui des protéines est « exécutif ». Le premier pas de la biologie moléculaire a été la découverte de la *transformation des bactéries* au moyen d'ADN (Avery, MacLeod, McCarthy, 1944). Pour expliquer les phénomènes biologiques, la biologie moléculaire fait appel à la chimie et à la physique moléculaire. Elle étudie un vaste ensemble de processus vitaux, dont la catalyse enzymatique, le transport membranaire, les phénomènes mécanochimiques, etc. A la différence de la biochimie classique, la biologie moléculaire s'associe à la physique: l'aspect physique de ses recherches et de ses problèmes constitue son trait spécifique.

Les chapitres précédents ont été consacrés aux problèmes de biophysique moléculaire relatifs à la structure et à la fonctionnalité des protéines. Maintenant nous abordons les questions physiques qui concernent la structure et les propriétés des acides nucléiques, la biosynthèse des protéines. Pour commencer, nous allons énumérer ces questions.

1. Structures secondaire et tertiaire de tous les types d'acides nucléiques. Relation entre la structure et les propriétés biologiques.

2. Code génétique qui détermine la relation entre la séquence des nucléotides dans les ADN et ARN génétiques et dans les ARN messagers et la séquence des résidus acides aminés dans la chaîne protéique. Le problème du code génétique qui apparaît lors du traitement atomique et moléculaire des phénomènes de la biosynthèse des protéines, relève de la physique. Aujourd'hui ce problème est résolu.

3. Sens physique et origine du *code génétique*. Le code n'est pas fortuit : il serait le résultat d'une évolution prébiologique. La physique est appelée à découvrir les lois intrinsèques du code et à construire le modèle théorique de son évolution.

4. Propriétés conformationnelles des acides nucléiques. Le comportement des acides nucléiques, ainsi que celui des protéines, a pour base des interactions électrono-conformationnelles (IEC). L'étude théorique et expérimentale des conformations des acides nucléiques et de leurs changements permet de découvrir le mécanisme des processus biologiques moléculaires, dont, notamment, la dénaturation et la renaturation des acides nucléiques, la réduplication des ADN et la réplication (*transcription* et *transcription inverse*) des ADN et des ARN.

5. Reconnaissance moléculaire entre acides nucléiques et entre acides nucléiques et protéines. L'interaction acides nucléiques-protéines a une grande signification pour la régulation de la biosynthèse des protéines, la régulation de l'action des gènes.

6. Interaction des acides nucléiques avec les petites molécules et ions, d'une grande importance pour la fonction des acides nucléiques et pour la formation des niveaux supérieurs de leur structure.

7. Structure et propriétés des systèmes supramoléculaires acides nucléiques-protéines : *ribosomes* et *chromosomes*. Mécanismes moléculaires de leur fonctionnement.

8. Mécanismes physiques des mutations ponctuelles, i.e. des altérations de la structure primaire des macromolécules informationnelles d'ADN et d'ARN.

9. Simulation théorique (physico-mathématique) des processus de développement — de l'évolution prébiologique et biologique, de l'*ontogénèse* et de la *cancérogénèse* — en partant des propriétés connues des acides nucléiques.

Cette liste n'est pas exhaustive. Certains des problèmes énumérés sont déjà résolus, l'étude d'autres ne fait que commencer.

La physique a joué un grand rôle dans l'édification de la biologie moléculaire. Il suffit de mentionner la découverte de la double hélice des ADN effectuée par radiocristallographie ou la formulation précise du problème du code génétique. La façon d'aborder en physicien les problèmes biologiques que Schrödinger a réalisé dans son livre « Qu'est-ce que la vie » (1945), a stimulé le développement de la biologie moléculaire.

Au cours des derniers 10 à 15 ans une nouvelle situation s'est créée dans la biologie moléculaire. A l'étude des molécules biologiques comme telles, au déchiffrement du code génétique a succédé une nouvelle préoccupation : la biologie moléculaire s'est tournée vers les systèmes supramoléculaires et cellulaires beaucoup plus complexes. Il est devenu possible d'aborder les problèmes relatifs à la génétique moléculaire des *eucaryotes*, aux phénomènes d'onto-

génèse. A cette étape la biologie moléculaire s'est écartée de la physique moléculaire théorique et expérimentale. La raison en est la complexité des processus étudiés par la biologie moléculaire d'aujourd'hui. Rares sont les cas où l'on dispose d'assez de renseignements sur ces processus pour pouvoir formuler un problème physique. Toutefois, l'étude physico-mathématique du comportement des eucaryotes (*mitose*, *méiose*) et de l'ontogénèse ne cesse d'évoluer et constitue une source importante d'idées pour la biologie théorique. Nous reparlerons de ces tendances de la recherche dans les derniers chapitres de ce livre.

§ 7.2. Structure des acides nucléiques

La relation entre la structure d'une molécule et ses caractéristiques fonctionnelles n'est pas toujours simple et évidente. Nous avons vu, combien il est difficile d'établir cette relation pour les protéines. Les choses se présentent autrement dans le cas des acides nucléiques, surtout en ce qui concerne les ADN. Là au moins une fonction très importante — la réduplication des ADN — a reçu une explication qualitative dès la découverte de la structure secondaire.

La structure secondaire des ADN a été mise en évidence par la technique de radiocristallographie dans les travaux de Franklin, Crick, Watson et Wilkins (1952). Les brins orientés du sel de lithium d'un ADN natif ont fourni des diagrammes radiographiques qui contenaient jusqu'à une centaine de reflets (v. fig. 5.5). La disposition en croix des reflets indique immédiatement une structure en hélice.

L'ADN natif a la forme d'une *double hélice* constituée par deux chaînes polynucléotidiques entrelacées, dont les bases azotées sont jointes par deux à l'aide de liaisons hydrogène. L'adénine (A) d'une chaîne est toujours appariée avec la thymine (T) de l'autre et la guanine (G) avec la cytosine (C). Ces paires de bases (*paires de Watson et Crick*) sont schématisées sur la figure 7.1, alors que la figure 7.2 représente le modèle moléculaire de la double hélice (la forme *B*, v. plus loin). Ainsi, les deux chaînes d'ADN réunies en double hélice sont mutuellement complémentaires: il y a une correspondance univoque entre leurs nucléotides: T est complémentaire de A et G est complémentaire de C. Cette complémentarité explicite le sens des règles de Chargaff (p. 39).

En se cristallisant, les ADN peuvent prendre des formes bihélicoïdales différentes. Dans les conditions d'une basse humidité relative (moins de 70 %) l'ADN se cristallise sous la forme *A* monoclinique, dont le réseau a les paramètres $a = 4{,}04$ nm, $b = 2{,}207$ nm, $\beta = 97{,}1°$. A une humidité plus élevée c'est la forme *B* hexagonale qui se réalise, pour laquelle $a = 4{,}6$ nm. Les deux formes d'un sel sodique d'ADN sont représentées de façon schématique sur la fi-

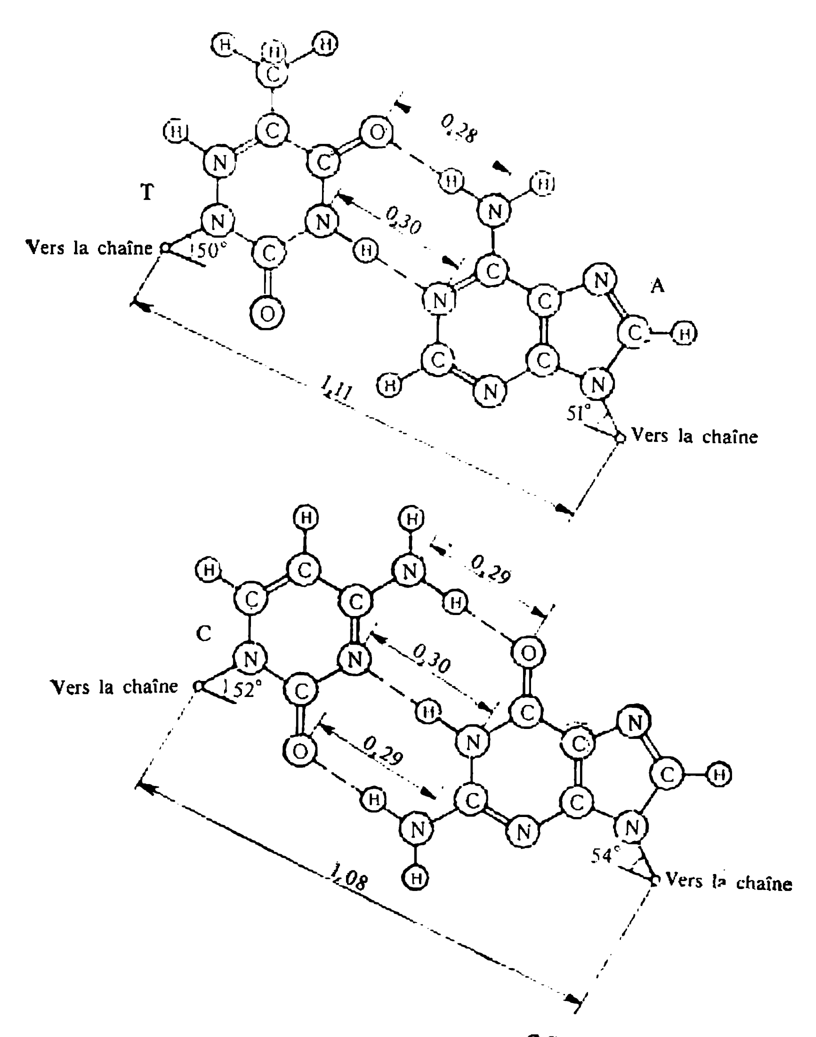


Fig. 7.1. Paires AT et GC

gure 7.3. Plus tard on a découvert la forme *C*. Dans le tableau 7.1 on trouvera les caractéristiques des formes *A*, *B* et *C* des ADN. Elles diffèrent par la valeur du pas de la double hélice, par les angles de rotation entre les paires de bases voisines et par l'inclinaison du plan des paires de bases par rapport à l'axe de l'hélice.

La conformation de la chaîne polynucléotidique est déterminée par l'ensemble des angles de rotation représentés sur la figure 7.4. Les angles sont relevés de la façon suivante : si l'on regarde le long

Tableau 7.1

Géométrie des différentes formes des ADN

Sel d'ADN	Humidité, %	Nombre d'unités par spire	Pas d'hélice, nm	Déplacement par nucléotide, nm	Rotation par nucléotide, deg	φ_1, deg	φ_2, deg
Na, forme *A*	75	11	2,82	0,255	32,7	20	16
Na, forme *B*	92	10	3,46	0,346	36	—	—
Li, forme *B*	66	10	3,37	0,337	36	2	5
Li, forme *C*	66	9,3	3,10	0,332	39	6	10

Ici φ_1 est l'angle entre la perpendiculaire à l'axe de l'hélice et le plan des bases et φ_2 est l'angle dièdre entre les plans des bases d'une paire.

de la liaison qui sert d'axe à la rotation, la liaison à grande distance tourne dans le sens des aiguilles d'une montre par rapport à la liaison à petite distance. L'angle est mesuré à partir de la position *cis* des liaisons (fig. 7.5). Le tableau 7.2 donne les valeurs des angles de rotation pour trois conformations des ADN.

La conformation de la chaîne polynucléotidique dépend de la conformation du sucre : du ribose ou du désoxyribose. Le sucre peut présenter quatre conformations, suivant l'atome du cycle pentagonal (C_2 ou C_3) (fig. 7.4) qui se trouve en dehors du plan des autres quatre atomes. Si l'atome C_2 (ou C_3) se trouve du même côté du plan que l'atome C_5, la conformation est dite *endo* ; dans le cas contraire c'est la conformation *exo*. On peut donc rencontrer les formes C_2-*endo*, C_3-*endo*, C_2-*exo* et C_3-*exo*. Les deux premières sont les plus fréquentes.

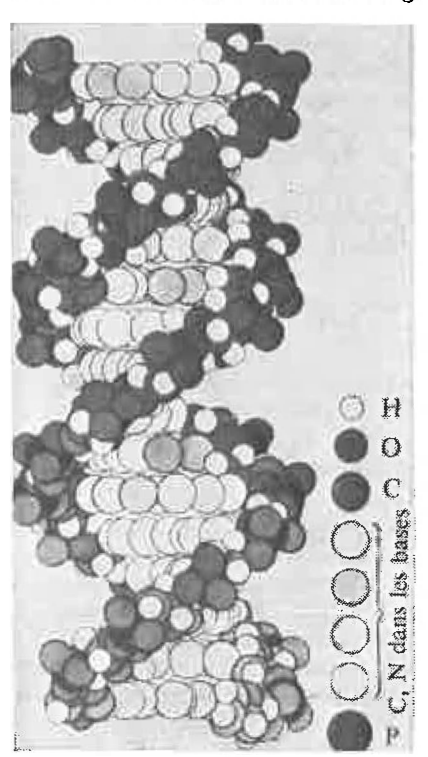


Fig. 7.2. Modèle moléculaire de la forme *B* de l'ADN

Le calcul théorique des conformations des chaînes polynucléotidiques et des doubles hélices est bien laborieux, car ces conformations dépendent de plu-

sieurs angles. Le groupe ribose ou désoxyribose est également labile sur le plan conformationnel. On procède de façon correspondante pour le calcul avec un sucre « rigide » et un sucre « mou ».

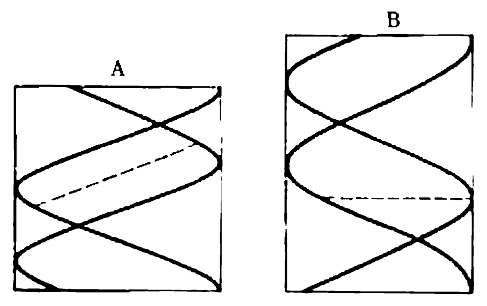


Fig. 7.3. Structure schématisée des formes *A* et *B* du sel sodique d'ADN

Comme le montrent l'expérience (dispersion diffuse des rayons X, le dichroïsme circulaire, etc.) et la théorie, il est plus juste de con-

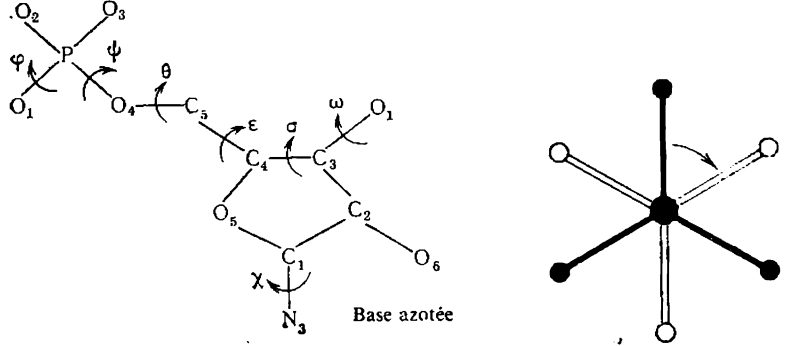


Fig. 7.4. Angles de rotation dans un maillon de la chaîne polynucléotidique

Fig. 7.5. Sens de rotation

sidérer non pas des conformations isolées (*A*, *B*, *C*, . . .) des ADN, mais les familles conformationnelles *A* et *B*. La forme *C*, ainsi

Tableau 7.2

Conformations des ADN

Forme	ψ, deg	θ, deg	ε, deg	σ, deg	ω, deg	φ, deg
A	283	167	67	76	221	279
B	281	212	58	130	147	282
C	315	143	48	168	211	212

que les formes *T* et *D* sont proches de la forme *B* et appartiennent à la famille *B*. La double hélice se trouve être une structure susceptible d'une variation permanente de la conformation. Dans les limites des familles *A* et *B* les conformations varient de façon non coopérative, probablement, par changement progressif des paramètres de l'hélice. Par contre, la transition d'une famille à l'autre, $A \rightarrow B$, est brusque et coopérative; la conformation du sucre passe alors par saut de l'état 3-*endo* dans l'état 2-*endo*. Il a été démontré qu'à une disposition donnée des bases azotées correspond un nombre limité de conformations de l'ossature (sucre + phosphate) de la double hélice régulière (Ivanov et col.).

Les doubles hélices des ADN sont *droites* dans les formes *A*, *B* et *C*. Plus récemment, Rich et col. ont découvert une double hélice gauche d'ADN. On l'a baptisée forme *Z*, du fait qu'elle est en zigzag. Cette forme a été obtenue pour la première fois pour les hexamères bihélicoïdaux GC:

CGCGCG

GCGCGC

Les formes *Z* se composent de chaînes où alternent purines et pyrimidines. Les ADN se stabilisent sous la forme *Z* dans le cas d'une concentration élevée du sel, ainsi que par bromuration ou par méthylation.

Ensuite on a essayé de trouver la forme *Z* dans la nature. On a pu obtenir des anticorps du lapin qui correspondaient à de courtes doubles hélices bromées construites avec G et C alternants. C'est à l'aide de ces anticorps que l'on a réussi à détecter des ADN-*Z* dans les chromosomes polytènes des larves de la mouche des fruits. Les anticorps correspondant à la forme *Z* sont fixés par ces chromosomes en certains points déterminés. Comme l'a montré l'étude des ADN synthétiques, les successions purine-pyrimidine peuvent subir des transitions de la forme *B* droite à la forme *Z* gauche, en fonction de la concentration du sel ou d'une modification chimique (méthylation). Ces transitions sont réversibles. Il paraît que la méthylation et la déméthylation sont des processus essentiels pour le contrôle de l'activité des gènes. Certaines raisons poussent à croire que les ADN-*Z* jouent un rôle de régulation.

Des antigènes fixant les anticorps correspondant aux ADN-*Z* ont été décelés chez les souris qui souffraient du lupus. On suppose que les ADN-*Z* jouent un rôle important dans les affections d'auto-immunité.

Une série de faits témoignent de certaines transformations conformationnelles des ADN qui seraient essentielles pour leur fonctionnement, pour l'interaction avec les enzymes (polymérases), pour la régulation de l'action des gènes et ainsi de suite (v. §§ 8.3 et 8.8).

La double hélice d'ADN se caractérise, dans toutes ses confor-

mations possibles, par la présence de deux sillons hélicoïdaux, large et étroit, à la surface de la macromolécule.

Il est évident que la double hélice peut être organisée de deux façons : comporter deux chaînes parallèles ou antiparallèles (fig. 7.6). Les données radiocristallographiques et biochimiques témoignent en faveur du second modèle. Les chaînes de la double hélice sont donc antiparallèles.

La structure spécifique en double hélice des ADN explique directement des faits importants : la réplication des ADN lors de la mitose

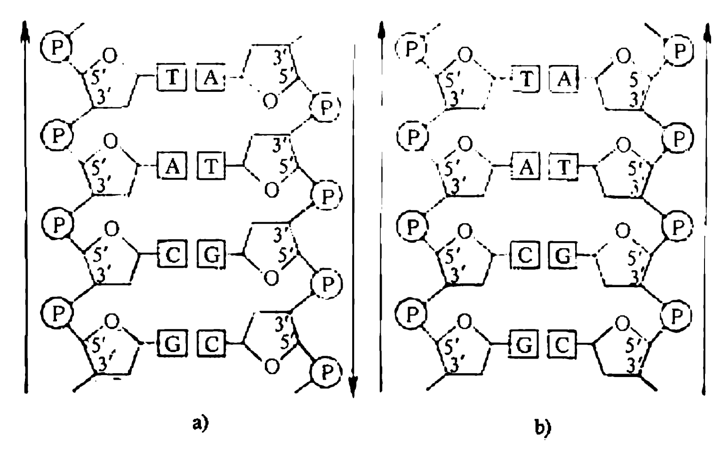


Fig. 7.6. Doubles hélices constituées des chaînes antiparallèles (*a*) et parallèles (*b*)

et leur stabilité métabolique. Selon Crick et Watson, au cours de la réplication il y a d'abord division de la double hélice par suite de la rupture des liaisons hydrogène et de la détorsion des chaînes. Chacune des chaînes sert alors de matrice pour l'assemblage d'une nouvelle chaîne, complémentaire de la matrice. Les monomères de la nouvelle chaîne se lient à la matrice en formant les paires de Watson-Crick : AT, TA, GC et CG. Simultanément, il y a polycondensation des nucléosides triphosphates, ce qui donne deux doubles hélices identiques à l'initiale. Ce *modèle semi-conservatif* (la nouvelle hélice se compose d'une ancienne et d'une nouvelle chaîne) est confirmé par l'expérience (v. § 7.7). Les erreurs commises au cours de la réplication sont les *mutations ponctuelles* (§ 8.7). La double hélice ressemble à un cristal unidimensionnel ; ses bases azotées sont assemblées de façon compacte et solidement liées par des interactions faibles (§ 7.3). Cela explique la stabilité métabolique des ADN et la bonne conservation des gènes. En son temps, Schrödinger se demandait quelle pouvait être la cause d'une telle stabilité d'un corps constitué

d'atomes légers (C, H, N, O, P). La découverte de la double hélice a fourni la réponse à cette question.

Les molécules d'ADN sont les plus grosses parmi toutes celles que la science connaît. On a isolé du phage T2 des molécules annulaires d'ADN à double hélice d'une longueur allant jusqu'à 49 μm et d'*E. coli* des molécules longues de 400 μm, ce qui correspond à une

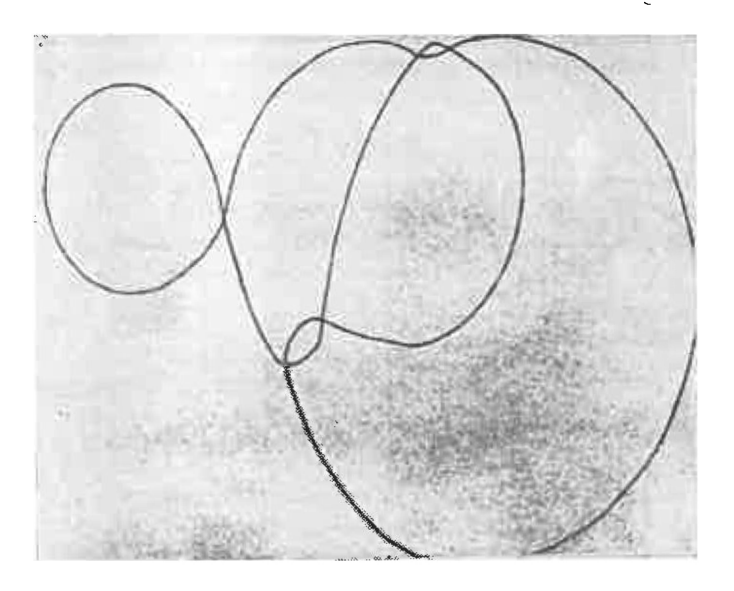


Fig. 7.7. Microphotographie électronique de la double hélice fermée de l'ADN du phage λ (×44 000)

masse moléculaire de l'ordre de 10^9. Les figures 7.7 et 7.8 représentent les photographies de molécules d'ADN obtenues au moyen d'un microscope électronique.

Les solutions d'ADN natif sont très visqueuses. Mais cela ne veut pas dire que toute la macromolécule n'est qu'une tige rigide roulée en double hélice. L'ADN forme une pelote bien peu compacte, car sa rigidité est élevée : la *longueur persistante* de l'ADN (v. p. 80) dans la solution 0,15 M de NaCl est égale à 50 nm (à 80 nm dans la solution 0,0014 M de NaCl). La longueur de 50 nm correspond approximativement à 150 nucléotides.

La densité des ADN qui est d'environ 1,7 g/cm³, augmente de façon linéaire avec l'accroissement de la proportion des paires G + C (la masse moléculaire d'une paire A + T vaut 247, celle de la paire G + C est égale à 273). Toutefois, les volumes que les paires AT et GC occupent dans la double hélice sont à peu près les mêmes. L'accroissement de densité par pour cent de GC atteint 0,00103 g/cm³.

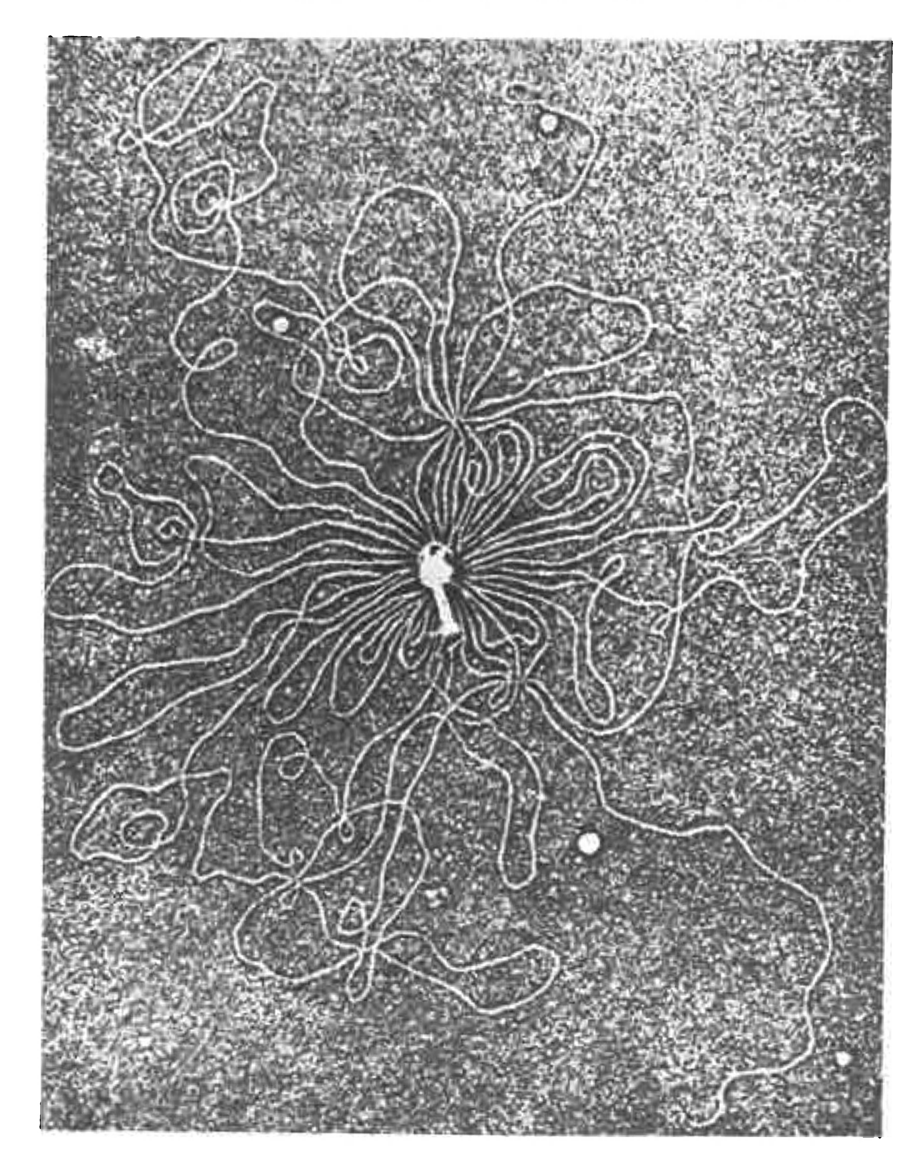


Fig. 7.8. Microphotographie électronique de l'ADN du phage T2 (×80 000)

Le chauffage, la variation du pH, etc., provoquent la dénaturation de l'ADN: transition double hélice-deux pelotes (§§ 7.4, 7.5). Il est aisé d'observer cette transition au moyen du spectre d'absorption des ADN (région de 260 nm) et du dichroïsme circulaire. La double hélice possède dans cette région un hypochromisme considérable: l'intensité d'absorption de l'acide nucléique hélicoïdal est de loin inférieure à celle de l'acide dénaturé en pelote.

Le dichroïsme circulaire (DC) des feuilles orientées et non orientées d'ADN varie en fonction de l'humidité et de la force ionique. Lorsque l'humidité relative est supérieure ou égale à 92 %, les spectres de DC des sels de Na et Li d'ADN sont identiques aux spectres des solutions et correspondent à la forme *B*. Si l'humidité relative est comprise entre 75 et 66 %, les feuilles à 3 % de Na^+ donnent un spectre de DC correspondant à la forme *A*. Le DC permet de juger des propriétés conformationnelles des ADN en solution et sous la forme de feuilles. L'étude de l'anisotropie du DC et de l'activité optique des macromolécules d'ADN orientées dans un courant (p. 170) fournit des résultats bien précieux.

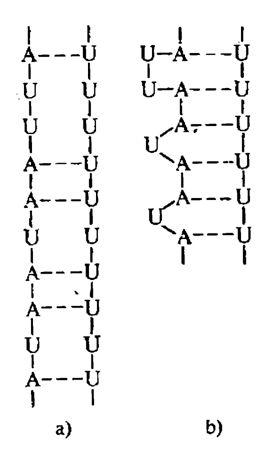


Fig. 7.9. Structures secondaires possibles des complexes poly-U-poly-AU

Les techniques mentionnées peuvent servir à identifier les portions en double hélice des molécules d'ARN qui ne comportent pas de chaînes complémentaires et ne vérifient pas les règles de Chargaff. Pour simuler ces portions bihélicoïdales des acides nucléiques, on utilise des polynucléotides synthétiques. Dans une solution 0,1 M de NaCl la poly-A forme une double hélice avec le poly-U, le plus grand hypochromisme (le taux le plus élevé de doubles hélices) étant observé, lorsque les composants du mélange de polynucléotides sont dans le rapport de 1 à 1. En présence de cations bivalents (solution $1{,}2\cdot10^{-2}$ M de $MgCl_2$), l'hypochromisme maximal correspond au rapport poly-U : poly-A = 2 : 1, i.e. il se forme une triple hélice. Les cations sont nécessaires pour la formation d'hélices, car ils compensent les charges des groupes phosphate en réduisant la répulsion électrostatique des chaînes.

L'étude des mélanges de poly-U et de copolymères poly-AU de différentes compositions a permis de déterminer la nature des sites altérés de la double hélice. L'adénine A, complémentaire de l'uracile U, se lie à ce dernier, alors que la liaison U-U est inexistante. L'interaction poly-U-poly-AU peut donner lieu à deux structures (fig. 7.9). Dans le premier cas les sites où un uracile se trouve en face

d'un uracile seraient dépourvus de liaisons hydrogène, l'hélice restant une hélice (fig. 7.9, *a*), dans le second cas les nucléotides non appariés seraient poussés hors de l'hélice pour former des *boucles* (fig. 7.9, *b*). Ces deux structures diffèrent l'une de l'autre par le rapport poly-U : poly-AU de même degré de polymérisation dans le

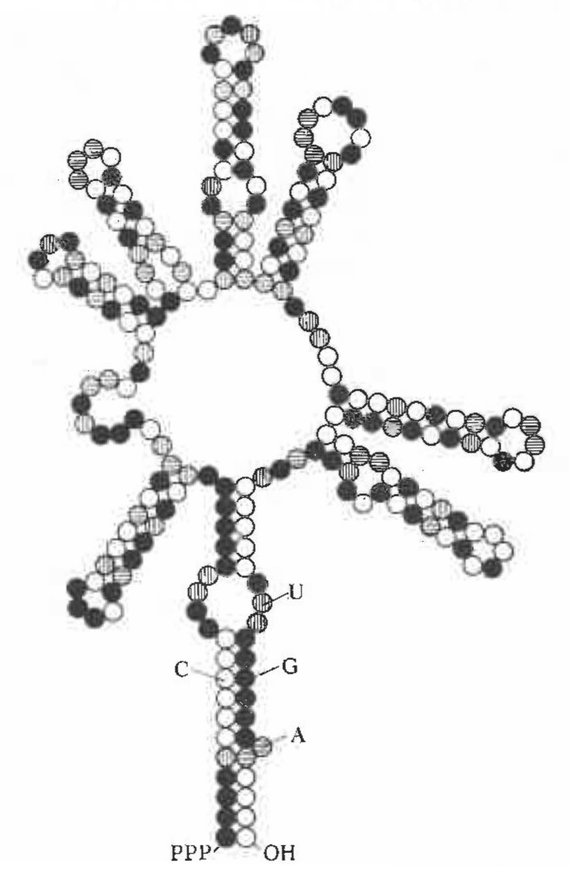


Fig. 7.10. Structure d'un ARN de phage. Les ronds différents représentent quatre variétés de nucléotides

système à l'hypochromisme maximal, i.e. dans la double hélice. Pour la structure *a* ce rapport vaut 10 : 10, pour la structure *b* 6 : 10. L'expérience témoigne sans ambiguïté en faveur de la seconde possibilité : il y a formation de boucles.

Tous les types d'ARN se caractérisent par la présence de longues boucles, ainsi que de portions en double hélice qui forment des « *épingles* ». La structure d'un ARN est montrée sur la figure 7.10.

L'appariement des bases ne se fait que dans les portions en double hélice. La stabilité à la dénaturation de l'ARN augmente également avec la proportion des paires GC.

On a le mieux étudié les molécules relativement petites d'ARNt. Elles comportent aussi des portions en double hélice (pour plus de détails voir le § 8.4).

La double hélice des ADN se ferme en cycle dans les cellules de bactéries (par exemple dans *E. coli*), dans les particules des bactériophages, etc. Il est possible de considérer un ADN — cyclique ou ouvert — en tant qu'une barre élastique caractérisée par deux paramètres énergétiques : rigidité en flexion de l'axe et rigidité en torsion (v. p. 80). La longueur persistante d'un ADN est proche de 60 nm : la double hélice possède une bonne rigidité en flexion. Un ADN fermé en cycle est constitué par deux anneaux passés l'un dans l'autre, l'ordre de cet enchaînement Lk étant une caractéristique importante et un invariant topologique. Une autre caractéristique est le nombre de tours Mw d'un des brins de la double hélice autour de l'axe de l'hélice lors du mouvement le long de l'axe. Si l'axe de la double hélice est disposé dans un plan, on a $Lk = Mw$. Dans le cas général, la différence de ces deux quantités, non nulle, exprime le degré de torsion de l'axe de la double hélice $Q = Lk - Mw$. La rigidité en torsion de la double hélice est déduite de la fluctuation quadratique moyenne de Q, soit de $\langle Q^2 \rangle = \langle (\Delta Lk)^2 \rangle - \langle (\Delta Mw)^2 \rangle$. Connaissant la valeur de la rigidité en torsion, on peut évaluer l'énergie libre nécessaire pour faire varier l'angle de rotation hélicoïdale d'un ADN d'une valeur donnée. Ainsi, pour augmenter cet angle de 2,6°, ce qui correspond à la transition de l'ADN de la forme B à la forme C, il suffit de dépenser 0,12 RT. La rigidité en torsion des ADN est donc assez faible.

L'étude théorique et expérimentale des ADN hyperhélicoïdaux en cycle fermé est devenue très actuelle (voir § 7.8).

Les ADN à deux brins possèdent une structure tertiaire spécifique en solution, en présence de polyéthylèneglycol. L'ADN prend alors la *forme compacte de tore*. En même temps, on observe une variation du DC. Il est probable que ce phénomène s'accompagne d'une agrégation des molécules d'ADN. Les diamètres des tores varient entre 80 et 140 nm. La formation du tore est une transition conformationnelle réversible.

§ 7.3. Interactions intramoléculaires dans la double hélice

La structure de la double hélice des ADN et des portions en double hélice des ARN est déterminée par les interactions faibles : liaisons hydrogène, forces électrostatiques et de dispersion.

Les bases azotées libres forment, à l'état solide, des complexes

à liaison hydrogène. Les structures de ces complexes sont connues dans un certain nombre de cas. On a trouvé des structures qui diffèrent de celle de Watson et Crick. Ainsi, on trouvera sur la figure 7.11 la structure de la paire méthyl-9 adénine-méthyl-1 thymine (MA-MT). Les atomes d'azote N_1 dans T et N_9 dans A sont bloqués par les groupes méthyle afin d'éviter la formation de liaisons hydrogène supplémentaires. On voit que l'atome N_1 de MT forme une liaison hydrogène avec l'azote imidazolique de MA. Cette structure se distingue de celle de Watson et Crick. Les possibilités de formation de liaisons hydrogène entre différents atomes des bases azotées des ADN, ainsi que la tautomérie des bases azotées présentent une grande importance du point de vue de la *mutagénèse*. Le bromuracile (méthylé) qui est un mutagène fort a été étudié accouplé à l'éthyladénine et à la méthyladénine. Il est intéressant de noter que dans ces deux cas voisins les structures que l'on obtient sont tout à fait différentes. Si dans la première paire on voit se former les liaisons hydrogène O_2—N_6 et N_3—N_7, dans la seconde ce sont les liaisons O_4—N_6 et N_3—N_7.

Fig. 7.11. Structure du complexe MA-MT

Fait remarquable : en solution, les bases s'associent de préférence suivant le modèle de Watson et Crick. Les liaisons hydrogène apparaissent dans les paires AU, AT et GC et non dans GU, AG et AC. On n'arrive pas, de même, à isoler de la solution des cristaux à paires non complémentaires.

La température de fusion de la double hélice, i.e. la température de la transition hélice-pelote, dépend linéairement de la proportion des paires GC. Il ne s'ensuit pas toutefois que l'énergétique de la double hélice ne serait déterminée que par les liaisons hydrogène. Au cours de la fusion, les liaisons hydrogène entre bases se voient remplacer par des liaisons avec les molécules d'eau. Voilà pourquoi la différence d'énergie entre les liaisons hydrogène de l'hélice et de la pelote est petite. Il doit y avoir d'autres facteurs stabilisant la double hélice.

A côté des interactions « horizontales » des bases azotées dans leur plan à l'intérieur de la double hélice on observe aussi des *interactions « verticales »* de bases appartenant à des paires voisines. Là il s'agit d'interactions entre bases parallèles et non coplanaires ; ces interactions sont perpendiculaires aux bases le long de l'axe de la double hélice (stacking).

Les bases azotées sont des systèmes électroniques π. Les cycles plans à élecrons π, parallèles les uns aux autres, sont réunis par des interactions de dispersion bien importantes (fig. 7.12). Voilà pourquoi les molécules planes de colorants, dont la chromaticité dépend

de la conjugaison des couplages électroniques π, s'avèrent capables de former des polymères en solution. Ces polymères, où les monomères sont attachés par des forces de dispersion, possèdent des propriétés optiques particulières, du fait du transfert excitonique de l'énergie d'excitation. Dans les doubles hélices des polynucléotides l'assemblage parallèle des bases se fait voir, notamment, dans l'effet d'hypochromisme (v. § 5.4).

Les premiers calculs théoriques des interactions entre les bases azotées dans les ADN ont déjà montré que les interactions de Van der Waals (dipôle-dipôle, d'induction et de dispersion) étaient

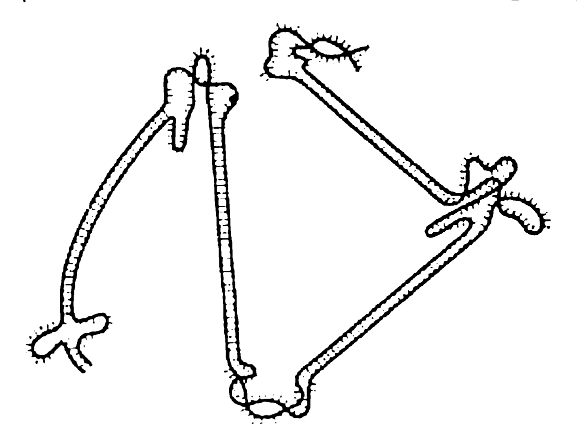


Fig. 7.12. Schéma de la structure d'un polynucléotide dans la région de transition hélice-pelote

beaucoup plus considérables dans la paire GC que dans la paire AT. Par la suite, les interactions électrostatiques ont été traitées avec plus de rigueur ; de plus, à l'aide de potentiels atome-atome, on a tenu compte des forces de répulsion. On a élaboré une technique de calcul des énergies des interactions horizontales et verticales, calculées en tant que sommes des interactions atomiques. On détermine la somme des énergies des interactions électrostatiques et de polarisation, ainsi que de l'énergie de répulsion. Les charges portées par les atomes et les liaisons sont trouvées à l'aide des méthodes approximatives de chimie quantique. Il est possible de contrôler l'efficacité de cette technique en calculant les énergies d'une série de cristaux moléculaires et en les comparant aux valeurs expérimentales des chaleurs de sublimation. Pour le naphtalène le calcul a donné 75,6 kJ/mol (l'expérience fournit 72,4), pour l'anthracène 104,2 (expérimentalement, 98,8, 100,0, 104,2). Ces chiffres donnent une idée de l'ordre de grandeur des interactions verticales. La plus grande énergie correspond à deux paires antiparallèles voisines CG, GC.

Nous ne citons pas de données numériques, car, pour l'instant, celles-ci ne sont pas univoques, dépendant sensiblement de la méthode de calcul utilisée. Il paraît que l'énergie d'interaction verticale varie, suivant les paires concernées, entre 40 et 60 kJ/mol, ce qui est sensiblement supérieur à l'énergie des liaisons hydrogène.

§ 7.4. Thermodynamique de la fusion de la double hélice

La dénaturation des acides nucléiques consiste à détruire la double hélice (ADN) ou les portions de chaîne en double hélice (ARN). Le chauffage d'une solution d'ADN natif provoque la séparation de la double hélice en deux chaînes qui forment des pelotes statistiques. On observe alors une diminution sensible de la viscosité et de l'activité optique et la disparition de l'hypochromisme: l'absorption devient plus intense dans la région de 260 nm. C'est la centrifugation d'un ADN contenant ^{15}N dans un gradient de densité de CsCl (cf. p. 86) qui fournit la preuve directe de la division en deux chaînes. Des cellules d'*E. coli*, cultivées sur un milieu à ^{15}N, étaient transférées sur un milieu à ^{14}N ordinaire. La division cellulaire s'accompagnait de la formation par réduplication de doubles hélices, dont une chaîne contenait ^{15}N et l'autre ^{14}N. Avant de procéder à la dénaturation on n'observait qu'un seul pic de densité à 1,717 g/cm³ qui correspondait aux doubles hélices à ^{15}N-^{14}N. Après dénaturation on voit apparaître deux pics: à 1,740 et à 1,724 g/cm³; ces pics correspondent aux pelotes à un seul brin comportant respectivement ^{15}N et ^{14}N. La densité augmente du fait que les pelotes sont plus compactes que l'hélice. La masse moléculaire d'un ADN dénaturé diminue de moitié. La formation de pelotes est observable par microscopie électronique.

Un modèle élémentaire de la double hélice peut être représenté à l'aide de deux chaînes complémentaires d'homopolynucléotides, par exemple, poly-A-poly-U. Cette double hélice fond à 65 °C dans une solution 0,15 M de NaCl de pH 7,0. L'intensité de la bande d'absorption à 260 nm augmente lors de la fusion de 34 %, alors que la rotation spécifique φ_{sp} diminue de 275°.

La dépendance linéaire de la température de fusion des ADN avec le pourcentage des paires GC donne par extrapolation les valeurs limites de la température de fusion: 69 °C pour poly-AT et 110 °C pour poly-GC, valeurs qui s'accordent bien avec les résultats expérimentaux pour les polynucléotides synthétiques correspondants (65 et 104 °C). La température de fusion des ADN croît avec la force ionique de la solution d'une façon approximativement proportionnelle au logarithme de la concentration des cations. Cet accroissement est compréhensible: plus la concentration des cations est élevée, plus les charges négatives des groupes phosphate sont compen-

sées et la répulsion entre les chaînes complémentaires est d'autant moins grande.

Doty a étudié la fusion des ADN dès 1957. Ce phénomène est bien original; les ADN sont l'exemple unique d'une structure unidimensionnelle ordonnée à distribution apériodique des chaînons.

Avant d'examiner un ADN, il est utile de considérer une double hélice plus simple, constituée de deux chaînes homopolynucléotidiques complémentaires. Dans la région de la transition hélice-pelote cette molécule comporte des portions hélicoïdales et désordonnées (boucles) qui alternent (fig. 7.12). Si l'on désigne par N_1 le nombre de paires rompues, par N_2 le nombre de paires liées et par n le nombre de portions en double hélice, égal au nombre de boucles, l'énergie libre du système s'écrira

$$G(N_1, N_2, n) = N_1G_1 + N_2G_2 + nG_s - TS_0, \qquad (7.1)$$

où G_1 et G_2 sont les énergies libres des molécules complètement séparées et des molécules complètement bihélicoïdales par paire de bases, G_s est l'énergie libre nécessaire pour la formation d'une boucle: région fondue entre deux régions en hélice. Enfin, S_0 est l'entropie du mélange des portions hélicoïdales et non hélicoïdales, soit (par mole)

$$S_0 = R \ln \frac{N_1!}{n!\,(N_1-n)!}\ \frac{N_2!}{n!\,(N_2-n)!}. \qquad (7.2)$$

Fig. 7.13. Transition hélice-pelote dans l'ADN

Pour une température donnée, le minimum de G correspond à la condition

$$\left(\frac{N_1}{n}-1\right)\left(\frac{N_2}{n}-1\right)=\frac{1}{\sigma}, \qquad (7.3)$$

où $\sigma = \exp(-G_s/RT)$ est le facteur de coopérativité (v.p. 107). La coopérativité est d'autant plus élevée que σ est plus petit. Les valeurs d'équilibre de N_1, N_2 et n sont obtenues en dérivant G par rapport à N_1, N_2 étant égal à $N - N_1$, où N est une constante. En posant $\partial G/\partial N_1$ nul, on a

$$\frac{1-n/N_2}{1-n/N_1} = s = \exp\frac{G_1-G_2}{RT}. \qquad (7.4)$$

Ainsi, dans la région de transition, l'homopolymère est une séquence de portions hélicoïdales et non hélicoïdales, dont les dimensions dépendent de σ. Cela est lié au caractère unidimensionnel du système qui, selon le *théorème de Landau et Lifchitz* (1930), ne peut se séparer en phases.

La courbe de fusion qui représente le taux des paires désordonnées $N_1/N = 1 - \theta$ (θ étant le taux d'hélices) en fonction de T est d'autant plus raide que σ est plus petit. Pour $\sigma = 1$ la coopérativité est absente, pour $\sigma = 0$ la coopérativité est totale. La dérivée $|d\theta/dT|$ est maximale au milieu de l'intervalle de fusion, l'intervalle étant défini par la condition

$$\Delta T = \frac{1}{|d\theta/dT|_{max}}. \qquad (7.5)$$

L'allure de la courbe est montrée sur la figure 7.13. Le calcul fondé sur le modèle d'Ising (pp. 77, 108) donne

$$\Delta T = 4\sigma^{1/2}\frac{RT_{fus}^2}{\Delta H}, \qquad (7.6)$$

ΔH étant la différence d'enthalpies entre les molécules hélicoïdale et non hélicoïdale par paire de bases. Les valeurs expérimentales de ΔT pour les homopolynucléotides synthétiques fournissent $\sigma \sim 10^{-4}$ à 10^{-5}, soit $G_s \approx 30$ kJ/mol. Le degré de coopérativité est très élevé.

Une étude détaillée des hétéropolymères effectuée par Lazourkine, Frank-Kamenetski et col., a permis d'élaborer une théorie appliquable aux ADN et à leurs complexes avec de petites molécules. Dans le traitement de l'hétérogénéité il faut tenir compte de deux facteurs : différence de stabilité entre paires AT et GC et renforcement ou affaiblissement supplémentaire de la double hélice par les ligands. Ces facteurs agissent de façons différentes, les ligands pouvant se déplacer le long de la chaîne au cours de la fusion, alors que la structure primaire demeure inchangée.

Posons que m_1 molécules de ligand sont fixées par les portions non hélicoïdales et m_2 molécules par les portions hélicoïdales du polymère. Alors, à la place de (7.1), on a

$$G(N_1, N_2, n, m_1, m_2) = N_1G_1 + N_2G_2 + nG_s + \\ + m_1g_1 + m_2g_2 - TS_0 - RT \ln \frac{N_1!}{m_1!\,(N_1-m_1)!}\,\frac{N_2!}{m_2!\,(N_2-m_2)!}, \quad (7.7)$$

où g_1 et g_2 sont respectivement les énergies libres des ligands dans les zones non hélicoïdales et hélicoïdales. Le dernier terme comporte l'enthropie du mélange du polymère avec les ligands. La condition de minimum $\partial G/\partial n = 0$ coïncide avec (7.3), i.e. la longueur moyenne des portions hélicoïdales à θ donné ne dépend pas de la présence de ligands. D'autre part, on tire de la condition $\partial G/\partial N_1 = 0$, au lieu de (7.4), la relation suivante :

$$\frac{1-n/N_2}{1-n/N_1} = s\,\frac{1-c_1}{1-c_2} = s^*, \quad (7.8)$$

où $c_1 = m_1/N_1$, $c_2 = m_2/N_2$. Ces concentrations des ligands sont exprimées à l'aide de la concentration en ligand de la solution (c_0) et des constantes de couplage K_1 et K_2 de la façon suivante :

$$c_1 = \frac{c_0}{1/K_1 + c_0}, \quad c_2 = \frac{c_0}{1/K_2 + c_0} \quad (7.9)$$

La courbe de fusion de l'homopolymère sans ligands est décrite par la fonction

$$\theta = f(s), \quad (7.10)$$

θ valant 0,5, lorsque $s_{fus} = 1$ (quand $G_1 = G_2$). En présence de ligands,

$$\theta = f(s^*) \quad (7.11)$$

et $\theta = 0{,}5$, lorsque $s^* = 1$, i.e. quand (v. (7.8))

$$s_{fus} = \frac{1-c_2}{1-c_1}. \quad (7.12)$$

L'écart de la température de fusion par rapport à celle du polymère pur (T_0) est défini comme suit :

$$\delta\left(\frac{1}{T_{fus}}\right) = \frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_{fus}} = \frac{R}{\Delta H} \ln \frac{1-c_1}{1-c_2}. \quad (7.13)$$

La variation de l'intervalle de températures de fusion s'écrit

$$\delta\left(\frac{\Delta T}{T_{\text{fus}}^2}\right)=\frac{\Delta T}{T_{\text{fus}}^2}-\frac{\Delta_0 T}{T_0^2}=-\frac{R}{\Delta H}\left[\frac{\partial}{\partial\theta}\ln\frac{1-c_1}{1-c_2}\right]_{\theta=0,5}. \tag{7.14}$$

La concentration totale des ligands dans la solution et sur le polynucléotide est égale à

$$c=c_0+(1-\theta)\frac{c_1 p}{2}+\theta\frac{c_2 p}{2}, \tag{7.15}$$

p étant la concentration des groupes phosphate du polynucléotide qui fixent les ligands. Lorsque $c \gg p$, on a

$$\delta\left(\frac{1}{T_{\text{fus}}}\right)=\frac{R}{\Delta H}\ln\left(\frac{1+K_2 c}{1+K_1 c}\right) \tag{7.16}$$

et

$$\delta\left(\frac{\Delta T}{T_{\text{fus}}^2}\right)=0. \tag{7.17}$$

Par contre, si le polymère fixe solidement les ligands dans toute la région de transition ($K_1 p \gg 1$ ou $K_2 p \gg 1$ et $c \approx p$),

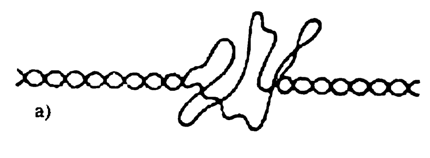
$$\delta T_{\text{fus}}=T_{\text{fus}}-T_0=2\left(\frac{q-1}{q+1}\right)\frac{RT_0^2}{\Delta H}\frac{2c}{p}, \tag{7.18}$$

$$\delta\Delta T=\Delta T-\Delta_0 T=4\left(\frac{q-1}{q+1}\right)^2\frac{RT_0^2}{\Delta H}\frac{2c}{p}, \tag{7.19}$$

où $q = K_2/K_1$.

Ainsi, les ligands agissent comme des agrafes, en stabilisant la double hélice.

L'expérience confirme les relations ci-dessus. Ainsi, l'équation (7.16) décrit l'effet du pH sur les courbes de fusion. Elle a aidé à déterminer les valeurs de $\Delta H = 40$ à 45 kJ/mol dans les conditions de forces ioniques élevées et de pH neutres. On a étudié en qualité de ligands les colorants acridiniques, les ions des métaux alcalins, Ag^+, Cu^+ et autres. Les ions Ag^+ et Cu^+ sont fixés de préférence par les paires GC dans la double hélice d'ADN. L'étude de la fixation des ions métalliques a fourni les valeurs de ΔH égales à 34 ± 4 pour 0,01 M de NaCl et à 46 ± 8 kJ/mol pour 0,1 M de NaCl. Ces valeurs de ΔH sont en bon accord avec les résultats des mesures calorimétriques directes.



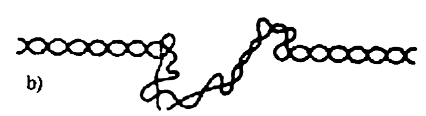


Fig. 7.14. Schéma de la fusion de la double hélice:
a) avec formation de boucles, b) sans formation de boucles

Considérons maintenant la fusion d'un hétéropolymère en double hélice. Des fois, cette fusion s'accompagne de la formation de grandes boucles; dans d'autres cas, il n'en est rien (fig. 7.14). On dispose

d'une théorie pour chacun de ces deux cas. Lorsque les paires AT et GC sont disposées de façon arbitraire, on obtient la dépendance linéaire de T_{fus} avec la teneur en paires GC (cf. p. 247).

L'hétéropolymère a la particularité de présenter un nombre relativement réduit de microétats correspondant à une énergie donnée. Il est bien peu probable que dans deux chaînes ayant les mêmes valeurs de N_1, N_2 et n il puisse exister deux distributions différentes de pelotes et d'hélices à énergie identique: on y trouverait à coup sûr des nombres différents de paires GC dans les portions fondues. L'entropie de mélange ne peut donc avoir un effet sensible sur la fusion des hétéropolymères. D'autre part, on y a affaire à un nouvel facteur énergétique, car la diminution de la longueur moyenne des portions fondues doit s'accompagner d'une réduction de leur teneur en paires GC plus stables. La compétition de ce facteur et du facteur conditionné par les désavantages des « jonctions » entre les portions hélicoïdales et non hélicoïdales, doit conduire, à θ donné, à l'alternance des portions hélicoïdales et non hélicoïdales d'une longueur déterminée.

Lazourkine et Frank-Kamenetski ont obtenu une solution approchée du problème de la fusion d'un hétéropolymère à disposition désordonnée des paires. Divisons la molécule en segments identiques, dont chacun contient λ paires. Si λ est suffisamment grand, la distribution de la concentration des paires GC dans ces segments sera gaussienne, soit

$$P_\lambda(x)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}b_\lambda}\exp\left[-\frac{(x-x_0)^2}{2b_\lambda^2}\right], \tag{7.20}$$

où $b_\lambda^2 = x_0(1-x_0)/\lambda$, x étant la teneur en paires GC et x_0 la valeur de x correspondant au maximum de distribution.

Le nombre total de paires GC dans les portions fondues est minimal, lorsque tous les segments, dont la teneur en ces paires est inférieure à une certaine valeur limite x_λ, sont fondus et que tous les segments à $x > x_\lambda$ sont hélicoïdaux. La valeur de x_λ est donnée par la condition

$$\int_0^{x_\lambda} P_\lambda(x)\,dx=\frac{N_1}{N}. \tag{7.21}$$

La concentration moyenne en GC des portions fondues s'écrit:

$$\bar{x}_1=\int_0^{x_\lambda} xP_\lambda(x)\,dx\left(\int_0^{x_\lambda} P_\lambda(x)\,dx\right)^{-1}=\frac{N}{N_1}\int_0^{x_\lambda} xP_\lambda(x)\,dx. \tag{7.22}$$

La composition de chaque segment ne dépendant pas de celle des autres, la probabilité pour la région fondue d'être constitué par r segments successifs s'écrit

$$w_r=(1-N_1/N)(N_1/N)^{r-1} \tag{7.23}$$

et le nombre moyen de segments dans la région fondue

$$\bar{r}=(1-N_1/N)^{-1}. \tag{7.24}$$

Le nombre moyen de paires de bases dans la région fondue

$$\bar{m}_1 = \lambda\bar{r} = \lambda (1 - N_1/N)^{-1} \tag{7.25}$$

et le nombre de régions fondues dans toute la molécule

$$n = N_1/\lambda\bar{r} = N_1 (1 - N_1/N)/\lambda. \tag{7.26}$$

L'énergie libre du polymère s'écrit

$$G(N_1, N_2, n) = N_1 [\bar{x}_1 G_1^{GC} + (1 - \bar{x}_1) G_1^{AT}] + \\ + N_2 [\bar{x}_2 G_2^{GC} + (1 - \bar{x}_2) G_2^{AT}] + nG_s, \tag{7.27}$$

G_s étant la contribution entropique déterminée par le mélange des régions. En introduisant les conditions $N_1 + N_2 = N$, $\bar{x}_1 N_1 + \bar{x}_2 N_2 = x_0 N$, en exprimant n en fonction de λ suivant (7.26), en désignant $\Delta G_{GG} = G_1^{GG} - G_2^{GG}$, $\Delta G_{AT} = G_1^{AT} - G_2^{AT}$ et en éliminant les termes constants, on obtient

$$G(N_1, \lambda) = N_1 \bar{x}_1 \Delta G_{GG} + N_1 (1 - \bar{x}_1) \Delta G_{AT} + N_1 (1 - N_1/N) G_s/\lambda. \tag{7.28}$$

Ici $\bar{x}_1$ est défini par la formule (7.22) avec x_λ tiré de (7.21). Les valeurs d'équilibre de N_1 et λ sont déduites de la condition de minimum de l'expression $G(N_1, \lambda)$ par rapport aux deux variables. Pour trouver la longueur moyenne de la région hélicoïdale et l'intervalle de fusion ΔT de l'hétéropolymère, il faut considérer les expressions (7.21), (7.22) et (7.28) au voisinage de $N_1 = {}^1/_2 N$, i.e. effectuer un développement en série de Taylor suivant $z = N_1/N - {}^1/_2$. En utilisant l'équation (7.20) et en omettant de nouveau les termes constants, on a

$$G(N_1, \lambda) = N \left\{ z\Delta G - \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \left[\frac{x_0(1 - x_0)}{\lambda} \right]^{1/2} \times \\ \times (\Delta G_{GC} - \Delta G_{AT})(1 - \pi z^2) + \frac{G_s}{4\lambda}(1 - 4z^2) \right\}, \tag{7.29}$$

où

$$\Delta G = x_0 \Delta G_{GC} + (1 - x_0) \Delta G_{AT}. \tag{7.30}$$

On tire de la condition $\partial G/\partial\lambda = 0$, pour $z = 0$,

$$\lambda_0 = \frac{\pi}{2} \left(\frac{G_s}{\Delta G_{GC} - \Delta G_{AT}} \right)^2 \frac{1}{x_0(1 - x_0)}, \tag{7.31}$$

alors que

$$\Delta G_{GC} - \Delta G_{AT} = (T_{GC} - T_{AT}) \Delta H_{AT}/T_{AT}, \tag{7.32}$$

où T_{GC} et T_{AT} sont les températures de fusion pour les polymères correspondants. A l'aide de (7.25), on trouve

$$\bar{m}_1 = \pi \left[\frac{T_{AT}}{\Delta H_{AT}} \frac{G_s}{T_{GC} - T_{AT}} \right]^2 \frac{1}{x_0(1 - x_0)}. \tag{7.33}$$

En annulant la dérivée de l'énergie libre par rapport à z à λ constant avant de dériver l'expression ainsi obtenue par rapport à T, on trouve

$$\Delta T = 2 \frac{\pi - 2}{\pi} \frac{\Delta H_{AT}}{T_{AT}} \frac{(T_{GC} - T_{AT})^2}{G_s} x_0 (1 - x_0). \tag{7.34}$$

La solution rigoureuse du problème ne diffère de celle-là que par les facteurs numériques. La formation de boucles au cours de la fusion est prise en compte par une contribution supplémentaire à G correspondant à l'entropie des boucles.

Le calcul numérique sur ordinateur utilisant comme paramètres indépendants les proportions des paires GC x_0, les températures de fusion des homopolymères T_{AT} et T_{GC}, ainsi que ΔH_{AT} et σ, a permis de déterminer les courbes de fusion, la longueur moyenne de la portion hélicoïdale en fonction du taux d'hélices θ et la largeur de l'intervalle de transition en fonction de x_0 pour différentes valeurs des paramètres mentionnés. Les figures 7.15 à 7.17 représentent les courbes obtenues pour $T_{AT} = 340$ K, $T_{GC} = 380$ K, $\Delta H_{AT} = 29$ kJ/mol, $\sigma = 5 \cdot 10^{-5}$, $N = 2 \cdot 10^4$ à 10^6. La dépendance linéaire de T_{fus} avec x_0 s'obtient de façon directe (en K):

$$T_{fus} = T_{AT} + (T_{GC} - T_{AT})\, x_0 = 340 + 40x_0. \quad (7.35)$$

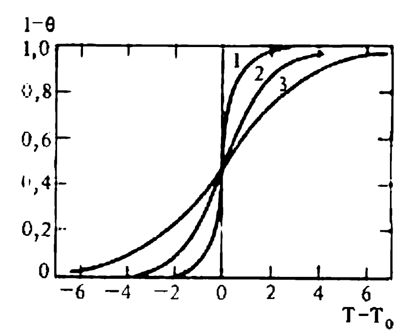


Fig. 7.15. $1 - \theta$ en fonction de T pour un polyhétéronucléotide: 1 — $x_0 = 0$, $T_{fus} = 340$ K, $N = 2 \cdot 10^4$; 2 — $x_0 = 0{,}1$, $T_{fus} = 344$ K, $N = 4 \cdot 10^4$; 3 — $x_0 = 0{,}5$, $T_{fus} = 360$ K, $N = 6 \cdot 10^4$

La prise en considération de la formation de boucles diminue quelque peu ΔT. La forme de la courbe théorique de fusion est en accord avec l'expérience presque independamment du modèle choisi. Par contre, pour ΔT, la courbe théorique dépend sensiblement du modèle adopté et des valeurs choisies des paramètres. Tous ces paramètres, σ excepté, sont tirés d'expériences indépendantes. Lorsque $\sigma = 5 \cdot 10^{-5}$, on retrouve parfaitement l'expérience pour une série de types d'ADN. Ainsi, l'expérience permet de trouver σ. La coopérativité de la fusion des ADN est très élevée.

Les déterminations de la densité optique (et, donc, du taux d'hélices θ) et des dimensions de la molécule d'ADN en solution par mesure de la viscosité intrinsèque au cours de la fusion ont fourni les longueurs moyennes des portions hélicoïdales. En accord avec la théorie, les longueurs des portions hélicoïdales varient entre 1000 et 2500 paires pour $\theta = 0{,}8$ à $0{,}9$, tandis que dans le domaine de transition ($\theta = 0{,}5$) m vaut 400 à 500 paires.

La température de fusion baisse et ΔT augmente, lorsque la longueur de chaîne diminue.

Les caractéristiques thermodynamiques de la fusion des ADN ont été étudiées par les méthodes de microcalorimétrie (Privalov). La chaleur et la température de fusion dépendent considérablement du pH. Lorsque le pH augmente de 0,7 jusqu'à 9,7, T_{fus} diminue de 84,8 jusqu'à 66,3 °C, ΔH de 40,4 jusqu'à 29,9 kJ/mol, ΔS de 113 jusqu'à 88 J/(mol·K). Le pH diminuant de 5,4 jusqu'à 3,2, T_{fus} baisse de 84 jusqu'à 55 °C, ΔH de 39,5 jusqu'à 10,4 kJ/mol,

ΔS de 107 jusqu'à 52 J/(mol·K). La valeur de T_{fus} dépend aussi de la force ionique.

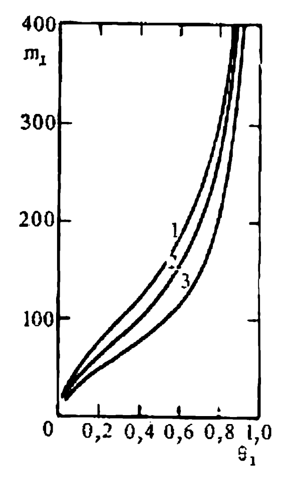


Fig. 7.16. Nombres moyens de paires de bases dans les portions fondues en fonction de $\theta_1 = 1 - \theta$. Les courbes *1*, *2*, *3* correspondent aux paramètres identiques à ceux de la figure 7.15

Fig. 7.17. Intervalle de températures de fusion en fonction de la concentration en paires GC

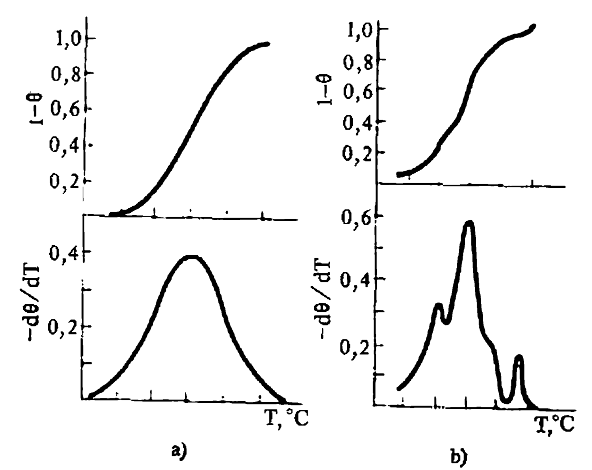


Fig. 7.18. Courbes ordinaires et différentielles de fusion de l'ADN : *a*) courbes lisses, *b*) courbes à structure fine

Lazourkine résume comme suit les résultats principaux des calculs théoriques appliqués aux molécules réelles d'ADN à séquence accidentelle des nucléotides dans les conditions physiologiques.

1. La largeur de l'intervalle de fusion ΔT est de 2,5 à 3 °C.

2. La dépendance de la longueur moyenne de la portion hélicoïdale avec le taux d'hélices θ est représentée par une courbe en S.

3. Les ADN circulaires fermés figurant dans les phages et les bactéries doivent fondre à une température plus élevée que les mêmes ADN sous la forme linéaire du fait de l'impossibilité topologique de réaliser une détorsion libre avec formation de boucles.

L'expérience confirme ces prévisions pour une série de bactériophages. En même temps, les valeurs sensiblement plus élevées de ΔT dans le cas des ADN des bactéries (~5 °C) et des organismes supérieurs (~10 °C) ont conduit à présumer une structure en blocs pour ces ADN. Tout ADN d'un génome peut être divisé en une série de séquences différant les unes des autres par leur teneur moyenne en paires GC et présentant chacune une disposition quasi accidentelle des bases. La masse moléculaire de ces blocs est égale à $(5$ à $15) \cdot 10^9$.

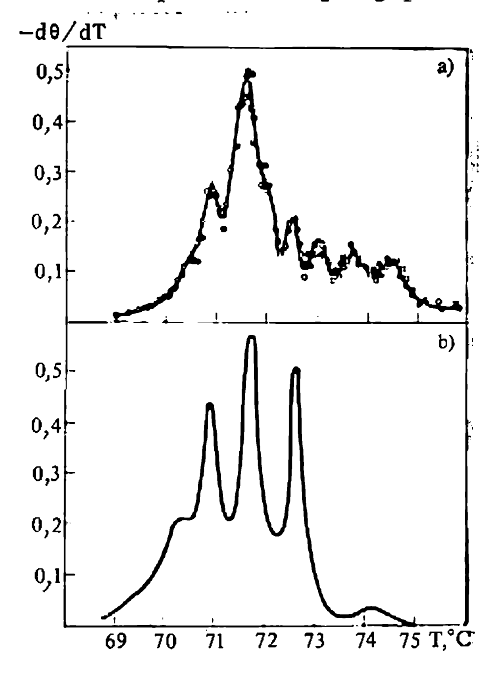


Fig. 7.19. Courbes différentielles de fusion de la forme bihélicoïdale réplicative de l'ADN du phage φX174

Des mesures optiques plus précises ont permis de mettre en évidence une structure fine des courbes de fusion. Cette structure fine a été observée pour la première fois dans l'ADN du phage T7. Pour la rendre visible, on représente les courbes de fusion sous la forme de la dérivée du taux de fusion $(1 - \theta)$ par rapport à la température, prise en fonction de la température. Cela est montré sur la figure 7.18. On utilise les techniques de dérivation graphique ou sur ordinateur des courbes de fusion ou bien de dérivation automatique des courbes de fusion au cours de la détermination. Dans le dernier cas on mesure, notamment, la différence d'absorption de la lumière entre deux cuvettes, où l'on maintient les mêmes températures, tout en créant une faible différence de T_{fus} entre les deux solutions en faisant varier la concentration du sel. La structure fine de la courbe différentielle de fusion (CDF) s'observe pour les doubles hélices d'ADN

d'une longueur modérée : elle disparaît, lorsque le nombre de paires devient supérieur à 10^5.

Selon la théorie, à chaque pic de la CDF correspond la fusion d'une portion assez longue, dont la teneur en paires GC est telle que sa température de fusion T_{fus} coïncide avec la température de l'expérience. La théorie explique les détails de la CDF. On trouvera sur la figure 7.19, *a* la CDF expérimentale du phage φX174 et sur la figure 7.19, *b* la CDF théorique calculée sur la base de la succession connue de 5375 nucléotides de cet ADN.

§ 7.5. Cinétique du déroulement de la double hélice

Jusqu'ici nous n'avons rien dit sur les vitesses de transition hélice-pelote. Cependant, ces questions ne sont pas triviales.

C'est Kuhn qui a été le premier (1957) à se pencher sur la cinétique du déroulement de la double hélice d'ADN. Le déroulement apparaît après la rupture des liaisons unissant les chaînes. Dans l'hypothèse qu'il résulterait du mouvement brownien de rotation le processus exigerait un temps τ beaucoup plus important que celui que l'on observe réellement. Ainsi, pour un ADN de masse moléculaire $3 \cdot 10^6$, le déroulement de 450 spires nécessaire pour la séparation complète, durerait 150 jours, alors qu'en réalité τ est de l'ordre d'une minute dans le cas d'un ADN, dont la M.M. est voisine de 10^8. Kuhn a considéré la séparation des chaînes qui résulterait d'une combinaison des mouvements thermiques de rotation et de translation, mais la valeur de τ qu'il a obtenue (près d'une minute) pour un ADN de masse moléculaire de $3 \cdot 10^6$ était quand même trop élevée.

Le temps de déroulement diminue sensiblement, si l'on tient compte du moment de rotation provenant de l'accroissement de l'entropie des chaînes séparées (Longuet-Higgins et Zimm, 1960). Ce moment s'écrit

$$P = \frac{T\Delta S}{\varphi} = \frac{57,3}{36} T\Delta S, \qquad (7.36)$$

$\varphi = 36/57,3$ étant l'angle exprimé en radians, duquel il faut tourner l'extrémité de la chaîne pour libérer une paire de bases. La vitesse de déspiralisation, i.e. la vitesse angulaire relative de deux moitiés de l'hélice, est $\omega = P/\beta$, β étant le coefficient de frottement. Pour les hélices d'une masse moléculaire proche de 10^6 τ est de l'ordre de quelques secondes. Cette estimation ne tient pas compte de l'irréversibilité du déroulement et de l'embrouillement des chaînes libérées.

Sans nous attarder sur les autres modèles, nous allons considérer la théorie que Fong a proposée en 1964. Les chaînes libres ne s'embrouilleront pas, si la rupture des liaisons chaîne-chaîne se produit au point médian de la double hélice. Ses deux moitiés fluctuent de façon indépendante, tantôt elles sont défaites, tantôt s'entrelacent

de nouveau. Toutefois, au début de la séparation l'enroulement secondaire est impossible par suite de l'assemblage trop compact de l'hélice: l'énergie cinétique d'enroulement des chaînes se transforme alors en énergie potentielle qui favorise le déroulement. S'il y a eu beaucoup de tours, le réenroulement devient possible. Ainsi, les deux moitiés de l'hélice s'enroulent et se déroulent de façon désordonnée, sans que le rayon de l'hélice change. Mais l'enroulement ne peut continuer infiniment: un tel mouvement désordonné s'accompagne donc, de préférence, du déroulement de l'hélice.

Le nombre de tours $N(t)$ lors du déroulement est inférieur ou égal au nombre initial de tours de l'hélice N_0. Il s'agit de déduire τ de la condition

$$\int_0^{\tau} \omega(t)\, dt = -2\pi N_0, \tag{7.37}$$

où $\omega(t)$ est la vitesse angulaire relative des deux moitiés de l'hélice. Si $N(t) = N_0$, le nombre de tours de déroulement est égal à celui de tours d'enroulement, $\omega(t_-) = -\omega(t_+)$. On peut évaluer les limites supérieure et inférieure de τ. La valeur moyenne de $\omega(t)$ dans un certain intervalle temporel $(\overline{\omega}(t))$ est une fonction monotone décroissante de t, car le déroulement d'une double hélice à nombre doublé de tours exige un temps plus que double. On obtient la limite inférieure de τ en remplaçant $\overline{\omega}(t)$ par la valeur maximale initiale $\overline{\omega}(0)$. Soit ω_0 la vitesse angulaire relative initiale. Si les deux moitiés de l'hélice se déroulent, $\omega(0) = 2\omega_0$. Comme à l'instant $t = 0$ l'ADN se déroule pendant la moitié du temps et s'enroule pendant l'autre moitié, $\overline{\omega}(0) = {}^1/_2\ \omega(0) = \omega_0$. On déduit cette quantité de la condition

$$^1/_2 I\omega_0^2 = {}^1/_2\, kT, \tag{7.38}$$

où I est le moment d'inertie de la moitié de l'hélice par rapport à son axe. Lorsque $N_0 = 2\cdot10^4$ (M.M. $1,2\cdot10^8$, nombre de paires de bases $2\cdot10^5$) et $T = 20\ °C$, $\omega_0 = 3\cdot10^8$ rad/s. La limite inférieure de τ est donc

$$\tau_{\text{inf}} = 2\pi N_0/\overline{\omega}(0) = 4,2\cdot10^{-4}\ \text{s}.$$

La limite supérieure τ_{sup} correspond à un enroulement et un déroulement chaotiques, sans que le dernier soit favorisé. Admettons que la double hélice d'ADN se trouve dans l'eau à 20 °C. Le moment de rotation moyen P de la moitié d'une molécule de masse moléculaire $1,2\cdot10^8$ vaut $1,34\cdot10^{-22}$ un. C.G.S., le moment cinétique de la molécule d'eau $p = 1,9\cdot10^{-18}$ un. C.G.S. En multipliant p par le rayon de l'hélice, on trouve le moment moyen de rotation qui résulte de la collision des molécules d'eau et d'ADN, $p' = 1,7\cdot10^{-25}$ un. C.G.S. et $P/p' = q = 7,8\cdot10^2$. Pour rendre P nul, il faut avoir un grand nombre de collisions égal à q^2. Le calcul fournit $2\cdot10^{15}$ collisions par seconde et $3\cdot10^{-10}$ s pour le temps que nécessitent q^2 collisions: le temps pendant lequel le moment passe de P à zéro. Le temps moyen $\bar{t}$ entre deux zéros successifs du moment fluctuant est deux fois plus élevé par suite de la symétrie des fluctuations dans le temps. Durant le temps t la vitesse angulaire ne change pas de signe et on peut considérer $\bar{t}$ et le nombre de tours n effectués pendant ce temps comme un pas dans la migration brownienne. On a $n = \omega_0\bar{t} = 2,9\cdot10^{-2}$ tours et le temps τ_{sup} pour 10^4 tours égal à $(10^4/n)^2\,\bar{t} = 73$ s. Pour $N \gg 1$ le temps τ est voisin de la limite supérieure. Cette valeur retrouve l'expérience. Selon le calcul, $\tau_{\text{sup}} \sim M^3$, $\tau_{\text{inf}} \sim M^{3/2}$ (M est la masse moléculaire).

L'expérience donne pour une série d'ADN des phages $\tau \sim M^2$. La dépendance quadratique provient directement du fait que τ doit être proportionnel au nombre de spires, i.e. à M, et à la viscosité du milieu, i.e. également à M. Massey et Zimm (1969) ont étudié la dénaturation des ADN par des méthodes de relaxation et ont établi la variation de τ en fonction de plusieurs facteurs : de la viscosité et de la force ionique du milieu, de la concentration de l'ADN, de sa masse moléculaire, du stade de la transition hélice-pelote. On a

$$\tau = b\,(1 + c\,[\eta])\,\eta_0 M\psi, \tag{7.39}$$

où $0 < \psi < 1$ est le facteur caractérisant le stade de la transition, c la concentration de l'ADN, $[\eta]$ sa viscosité intrinsèque, η_0 la viscosité du solvant, b une constante qui dépend de la force ionique. Lorsque les valeurs de c sont petites, $\tau \sim M$. Le fait que τ augmente du début de la transition vers sa fin témoigne de l'accroissement de la résistance du milieu au fur et à mesure que la molécule s'ouvre. La formation de boucles fait croître le rayon effectif de la double hélice (la théorie de Fong n'en tient pas compte).

En réalité, la cinétique de la fusion d'un ADN natif correspond à toute une gamme de temps τ. La vraie théorie du phénomène n'existe encore pas : elle se heurte à de grandes difficultés dans l'étude de la relation entre l'établissement de l'équilibre interne et le déroulement. Les portions désordonnées de l'hélice peuvent être « refondues ».

Varchavski et Evdokimov ont appliqué la technique de choc thermique à l'étude du déroulement des ADN. On portait une solution d'ADN de 5 à 20 °C durant 0,5 s. Les courbes cinétiques montrent la présence d'au moins deux stades de la transition structurale. Au cours du premier stade, rapide, on voit disparaître presque tout l'effet hypochromique. Il paraît qu'à ce stade il y a formation de boucles fixes qui se défont complètement au cours du stade suivant. La vitesse de déroulement obéit à l'équation d'Arrhenius (p. 185), l'énergie d'activation du processus dépend fortement du pH en atteignant son maximum aux pH intermédiaires.

L'étude expérimentale de la cinétique du déroulement donne la possibilité de détecter les défauts de la structure secondaire des ADN. Lazourkine et col. ont élaboré à cet effet la *méthode cinétique au formaldéhyde* (MCF).

Si la solution contient une substance réagissant sur les nucléotides localement déspiralisés et empêchant ainsi la formation, par ces nucléotides, de paires de Watson et Crick, la réaction se poursuivra jusqu'à la déspiralisation complète. Si le temps de fixation d'un tel réactif est grand devant le temps de déroulement, ce sera cette réaction-là qui limitera la vitesse de déroulement. La constante de vitesse de la réaction d'un ADN natif avec le réactif est égale à $k = k'w$, w étant la probabilité de séparation pour toute paire de nucléotides de la molécule et k' la constante de vitesse de la réaction des nucléotides séparés

avec le réactif. Si quelques-unes des bases de l'ADN natif ont réagi en formant une portion localement dénaturée, la probabilité d'une dénaturation thermique des paires avoisinant cette portion s'accroît considérablement: $w' \gg w$. La constante de vitesse k' devient alors de loin supérieure à k. La formation d'un segment localement dénaturé exige une certaine énergie libre G_s (v.p. 248). C'est pourquoi $k/k' = w/w' \approx \exp(-G_s/RT) = \sigma \sim 10^{-4}$ à 10^{-5}. Comme $k \ll k'$, le déroulement, lent au début, s'accélère peu à peu, d'où la forme en S de la courbe représentant $1 - \theta$ en fonction du temps.

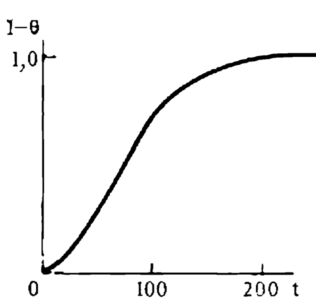


Fig. 7.20. Courbe cinétique pour un ADN à défauts (t est exprimé en unités conventionnelles)

Lorsque la double hélice possède des défauts (portions déspiralisées dès le départ), la pente initiale de la courbe devient plus importante. Cette courbe est montrée sur la figure 7.20. La théorie fournit la formule

$$-\ln \theta = (ky + 2k'c)\,t + kk't^2, \qquad (7.40)$$

y étant les dimensions initiales du centre de déroulement exprimées en nombre de paires, $c = \bar{n}^{-1}$ la concentration des défauts, $\bar{n}$ le nombre moyen de paires de la portion hélicoïdale. La dépendance de $-\ln \theta/t$ avec t a la forme d'une droite qui intercepte sur l'axe d'ordonnées le segment

$$z = ky + 2k'c. \qquad (7.41)$$

Le formaldéhyde est un tel agent déroulant. Evaluons le second membre de la formule (7.41). Comme il s'ensuit des expériences portant sur les mononucléotides, la constante de vitesse k' de la réaction entre la base et le formaldéhyde est de l'ordre de 1 mn^{-1}. Par conséquent, $k = wk' \sim \sigma k' \sim 10^{-4}$ à 10^{-5} mn^{-1}. La valeur d'y est inconnue, mais on a toutes les raisons pour croire qu'elle est égale à quelques unités. Ainsi, $ky \sim 10^4$ mn^{-1}. Cette valeur, inférieure à la limite de sensibilité des expériences cinétiques, peut être négligée devant $2k'c$, car $k' \gg k$ et c vaut plusieurs unités. Ainsi,

$$z = 2k'c. \qquad (7.42)$$

La constante k' est tirée, à l'aide de la formule (7.42), des expériences relatives à un ADN fragmenté: dans ces cas-là c est connu. L'ordre de grandeur de k' est 2,5 mn^{-1}. La moindre valeur mesurable de z est égale à $3\cdot10^{-4}$ mn^{-1}.

En d'autres termes, la MCF permet de déterminer la concentration minimale des défauts c de l'ordre d'un défaut par 10^4 paires de nucléotides. La méthode est très sensible. Elle donne de bons résultats dans l'étude des ADN à ruptures provoquées par les rayons UV, l'hydrolyse enzymatique, etc. Elle montre que les ADN natifs sont pratiquement dépourvus de défauts, ce qui invalide le modèle en zigzag avec des cassures brusques. La MCF est applicable à l'étude des complexes ADN-ARN-polymérase et de la structure fine des ADN.

Les chaînes séparées d'ADN, dénaturées en pelote, sont susceptibles de renaturation, formant de nouveau la double hélice. La *renaturation* des ADN a été découverte et étudiée par Marmur et Doty (1961). Un refroidissement lent (« le recuit ») de l'ADN dénaturé conduit à une restitution partielle de son activité biologique

(fig. 7.21) et de l'effet hypochromique. La renaturation se produit également après un refroidissement rapide, « la trempe », de l'ADN dénaturé, si l'on le porte de nouveau à une température quelque peu inférieure à la température de fusion. Il est commode de suivre une renaturation en observant la variation de la densité à l'aide de la sédimentation dans un gradient de densité de CsCl (v. pp. 86, 247). Si la densité de l'ADN natif vaut 1,704 g/cm³, celle de l'ADN dénaturé et trempé dans cet état est égale à 1,716 et celle de l'ADN renaturé à 1,700 g/cm³. La renaturation subit une forte influence de la température; la température optimale est assez haute pour permettre le déroulement des pelotes et assez basse pour pouvoir stabiliser la double hélice. A 67 °C, l'ADN de *Diplococcus pneumoniae* est renaturé 2,5 fois plus vite qu'à 80 et à 50 °C.

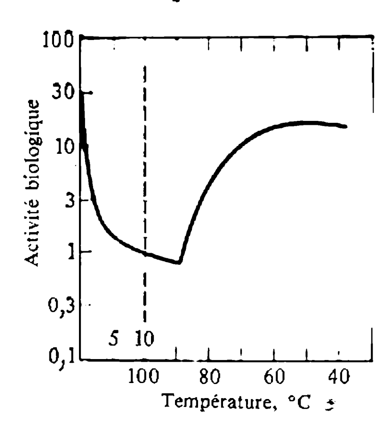


Fig. 7.21. Renaturation de l'ADN. Les nombres 5 et 10 au-dessus de l'abscisse correspondent au temps de cuisson à 100 °C

La renaturation est aisée chez les ADN des phages, l'est un peu moins chez ceux des bactéries, alors que les ADN des organismes supérieurs ne peuvent pratiquement pas être renaturés. Cela s'explique facilement: si les échantillons d'ADN tirés du thymus de veau, des cellules d'*E. coli* et du phage T2 avaient tous une masse moléculaire de 10^7, les nombres de molécules différentes d'ADN par cellule (ou par particule virale) vaudraient respectivement 10^6, 10^2 et 10. Pour une même concentration pondérale ces trois échantillons posséderaient des concentrations très différentes de leurs chaînes complémentaires et la probabilité d'une rencontre entre deux chaînes issues de la dénaturation de l'ADN de l'échantillon provenant des cellules d'un organisme supérieur serait bien petite.

La renaturation permet d'obtenir des doubles hélices hybrides à partir d'ADN d'origine différente. On a obtenu des hybrides d'ADN isolés des différentes souches d'*E. coli*, ainsi que des hybrides bactériens interspécifiques. L'hybridation des ADN met en évidence les liaisons génético-évolutives entre des bactéries.

§ 7.6. Interaction de la double hélice avec les petites molécules et les ions

Il est important d'étudier les interactions des ADN et des ARN avec les petites molécules, si l'on veut comprendre la structure des acides nucléiques et ses modifications. Il y a des cas, où les petites

molécules exercent un effet sensible sur la fonction biologique des ADN et des ARN. Les unes sont des mutagènes, d'autres inhibent la transcription (v. § 8.8). Parmi les mutagènes on peut mentionner, notamment, les *colorants acridiniques*, tels que

Proflavine Orange d'acridine

D'autre part, les molécules protéiques qui sont également petites devant celles d'ADN, régulent, en se fixant sur les ADN, les principaux processus génético-moléculaires.

La théorie de l'adsorption des petites molécules sur les ADN a été développée par Crothers, ainsi que par Gourski et Zassedatelev.

Soit un ligand biologiquement actif fixé par un certain nombre de paires de bases d'un ADN. Considérons, à l'équilibre, la fixation des ligands par un polymère constitué d'une suite désordonnée de paires AT et GC. Le ligand peut comporter des groupements fonctionnels, dont une partie réagissent de façon spécifique sur les paires de bases. Soit α la longueur du ligand, q_{AT} et q_{GC} étant les nombres de sites actifs reconnaissant les paires AT ou GC, par molécule de ligand. Chaque site se fixe sur une seule paire.

Admettons que le ligand est adsorbé par le polymère, lorsque tous ses sites de reconnaissance sont liés aux paires de bases correspondantes. Une telle fixation est schématisée sur la figure 7.22. Les valeurs d'α, de q_{AT}, de q_{GC} et de la constante de couplage K peuvent être déduites de la courbe expérimentale

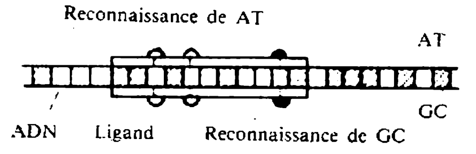


Fig. 7.22. Schéma de la reconnaissance de la double hélice d'ADN par la molécule de ligand

de couplage comparée à l'isotherme théorique calculée à l'aide d'un ordinateur. Une procédure plus simple consiste à calculer théoriquement les constantes effectives de couplage K_{eff}, le nombre de sites de couplage n_{eff} et le niveau de saturation pour le couplage $r_{\max}$. Les valeurs calculées sont comparées avec les résultats expérimentaux à l'aide du graphique de Scatchard (fig. 7.23). On a

$$r_{\max}=\lim_{m\to\infty} r,\quad K_{\mathrm{eff}}=\left|\lim_{r\to 0}\frac{d\,(r/m)}{dr}\right|,\quad n_{\mathrm{eff}}=\frac{\lim\limits_{r\to 0}(r/m)}{K_{\mathrm{eff}}} \tag{7.43}$$

où r est le rapport molaire du nombre des ligands liés à celui des paires de bases de l'ADN, m la concentration du ligand libre dans la solution.

La mécanique statistique conduit aux valeurs suivantes:

$$r_{max}=\frac{n}{1+\psi/2},\quad K_{eff}=K(1+\psi),\quad n_{eff}=\frac{n}{1+\psi},\tag{7.44}$$

$$n=x^{q_{AT}}(1-x)^{q_{GC}}.\tag{7.45}$$

Ici x est le taux des paires AT dans le polymère, K la constante réelle d'association. Le paramètre ψ permet de tenir compte de la diminution du nombre de positions sur le polymère restant disponibles pour une seconde molécule de

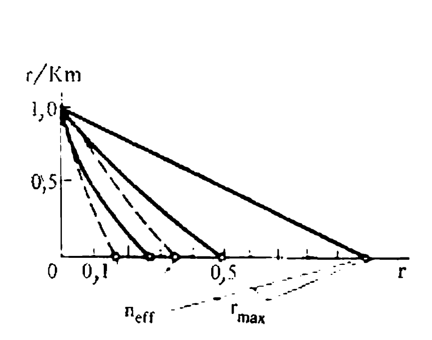


Fig. 7.23. Courbes représentant r/Km en fonction de r

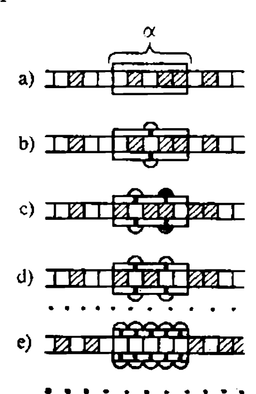


Fig. 7.24. Valeurs du paramètre ψ

ligand par suite de la présence de la première molécule. La fixation des ligands successifs ne se produit pas de façon indépendante. Les valeurs du paramètre ψ sont représentées sur la figure 7.24: (*a*) $l_{AT}=0$, $l_{GC}=0$; $\psi=2(\alpha-1)$; *b*) $l_{AT}=1$, $l_{GC}=0$; $\psi=2(\alpha-1)x$; *c*) $l_{AT}=1$, $l_{GC}=1$; $\psi=2(\alpha-2)\times x(1-x)$; *d*) $l_{AT}=2$, $l_{GC}=0$; $\psi=2x+2(\alpha-2)x^2$; . . .; *e*) $l_{AT}=\alpha$, $l_{GC}=0$; $\psi=2\sum_{i=1}^{\alpha-1}x^i$; ...).

Alors, par exemple, dans le cas d'un homopolymère, où la fixation des ligands ne dépend pas du rapport AT/GC, on a

$$K_{eff}=K(2\alpha-1),\quad n_{eff}=\frac{1}{2\alpha-1},\quad r_{max}=\frac{1}{\alpha}.\tag{7.46}$$

La différence entre n_{eff} et r_{max} est expliquée quantitativement sur la base du modèle adopté. La longueur du ligand α peut être déduite des valeurs expérimentales de n_{eff} et r_{max}. Les isothermes de fixation du bromure d'éthidium, de la spermine, de l'actinomycine et de la nétropsine par la double hélice d'ADN ont fourni les valeurs d'α égales respectivement à 2, 4, 5 et 5 paires de bases. Ces valeurs sont proches de celles auxquelles on s'attendait en partant de la taille moléculaire des ligands.

Les molécules plus petites du type des colorants acridiniques s'intercalent entre les paires de bases dans la double hélice d'ADN (modèle *intercalaire* de Lerman) ou bien s'installent dans les petits

sillons à la surface de la double hélice (modèle de Gourski). Probablement, les deux cas sont possibles. Le choix définitif d'un des modèles n'est pas encore possible.

§ 7.7. Réplication des ADN

Lors de la division cellulaire le matériel génétique se double: c'est la réplication de la double hélice d'ADN. Trois mécanismes de réplication sont possibles en principe: *conservatif*, avec maintien de la double hélice de départ et constitution d'une nouvelle double hélice identique à la première; *semi-conservatif*, lorsque deux doubles hélices filiales renferment chacune une nouvelle et une ancienne chaîne; enfin, le mécanisme dispersif avec distribution du matériel initial entre quatre chaînes de deux doubles hélices-filles. Meselson et Stahl (1958) ont étudié la réplication des ADN lors de la multiplication des cellules d'*E. coli* en utilisant des marqueurs atomiques et la sédimentation dans un gradient de densité de CsCl. Ils ont obtenu une population de cellules marquées à ^{15}N. On les transférait dans un milieu contenant du ^{14}N et non du ^{15}N, où ces cellules se divisaient. On isolait de la population de départ, ainsi que de celles d'« enfants » et de « petits enfants », des molécules d'ADN, dont on déterminait la densité et la radioactivité. L'ADN de départ, marqué à ^{15}N, avait la plus grande densité, l'ADN des « enfants » s'est trouvé être marqué à moitié et sa densité était égale à la moyenne arithmétique des densités des ADN à ^{15}N et à ^{14}N. Enfin, l'ADN des « petits enfants » s'est séparé par sédimentation en deux zones: une zone qui contenait un ADN identique au filial (marqué à moitié) et l'autre qui contenait un ADN non marqué. On peut le schématiser comme suit:

$$^{15}N\text{-}^{15}N \rightarrow 2\,^{15}N\text{-}^{14}N \rightarrow 2\,^{15}N\text{-}^{14}N + 2\,^{14}N\text{-}^{14}N.$$

Ces résultats sont en accord avec le mécanisme semi-conservatif. Il y a aussi d'autres données qui le confirment.

On a réussi à observer la réplication d'un ADN *in vitro* (Kornberg, 1960). On prenait un mélange d'incubation qui contenait tous les quatre nucléoside-triphosphates (ATP, GTP, TTP, CTP), des ions Mg^{2+} ($6 \cdot 10^{-3}$ M), un enzyme polymérisant tiré des cellules d'*E. coli* et un ADN natif (du thymus de veau) en qualité de matrice d'initiation; pH 7,5. Dans un tel système l'ADN est répliqué: il se forme des molécules identiques aux initiales. Le phénomène ne se produit pas en l'absence d'une des composantes ou lorsque l'ADN initial a subi un prétraitement à la désoxyribonucléase, enzyme détruisant l'ADN. En utilisant des nucléotides marqués à ^{32}P, on a démontré que la synthèse d'ADN est une polycondensation de monomères: l'introduction d'un nucléotide dans la chaîne libère une molécule de pyrophosphate $H_4P_2O_7$. En conformité avec la loi d'action de masse, la réaction est freinée en présence d'un excès de pyrophosphate.

Lorsque sa quantité est 100 fois plus grande que la quantité globale des triphosphates, la vitesse de réaction décroît de moitié. L'ADN nouvellement obtenu a les propriétés biologiques de l'ADN initial. Ainsi, la synthèse à partir de l'ADN du phage φX174 donne un ADN à effet infectant: il y a synthèse de particules virales. L'utilisation de l'enzyme polymérisant ADN-polymérase permet d'obtenir des polydésoxyribonucléotides synthétiques formant des doubles hélices en présence de complémentarité:

—A—T—A—T—A—T—A—T—
—T—A—T—A—T—A—T—A—

et

—G—G—G—G—G—G—G—G—
—C—C—C—C—C—C—C—C—

La variation de l'énergie libre lors de la formation de deux doubles hélices à partir d'une double hélice initiale et de nucléoside-triphosphates peut être représentée sous la forme

$$\Delta G = N\,(2E_1 + \bar{E}_2) - T\Delta S, \tag{7.47}$$

où N est le nombre de nucléotides dans la chaîne, E_1 l'énergie dégagée lors de l'introduction d'un nucléotide dans la chaîne, $\bar{E}_2$ l'énergie moyenne dégagée au cours des interactions qui stabilisent la paire de Watson et Crick. L'énergie $\bar{E}_2$ dépend de la teneur relative x des paires GC:

$$\bar{E}_2 = xE_{\mathrm{GC}} + (1-x)\,E_{\mathrm{AT}}. \tag{7.48}$$

La variation d'entropie ΔS est déterminée par le remplacement, dans la solution, du nucléotide-triphosphate (NTP) par le pyrophosphate (PP), ainsi que par le fait que le nucléotide ayant pris sa place dans la double hélice, s'est privé des degrés de liberté de rotation et de translation. Nous écrirons ce dernier facteur sous la forme $k \ln q$. Globalement,

$$\Delta S = -2Nk \ln \left(q \frac{c_{\mathrm{NTP}}}{c_{\mathrm{PP}}}\right) \tag{7.49}$$

où c_{PP} est la concentration du PP en solution, c_{NTP} la concentration moyenne du NTP, égale à $(c_{\mathrm{A}}^{(1-x)} c_{\mathrm{T}}^{(1-x)} c_{\mathrm{G}}^{x} c_{\mathrm{C}}^{x})^{1/2}$, c_{A}, c_{T}, c_{G} et c_{C} sont les concentrations des NTP correspondants. Si toutes ces concentrations sont les mêmes, $\bar{c}_{\mathrm{NTP}} = {}^{1}/_{4} c_{\mathrm{NTP}} = c_{\mathrm{A}} = c_{\mathrm{T}} = c_{\mathrm{G}} = c_{\mathrm{C}}$. La condition de réplication consiste dans le dégagement d'une énergie libre

$$2E_1 + \bar{E}_2 + 2kT \ln \left(q \frac{c_{\mathrm{NTP}}}{c_{\mathrm{PP}}}\right) \geqslant 0. \tag{7.50}$$

Les quantités E_1 et $\vec{E}_2$ valent approximativement 16 et 20 kJ/mol. La quantité $q = Z_1'Z_2/Z_1Z_2'$, où Z_1 et Z_1' sont les sommes statistiques pour le NTP en solution et pour le NTP lié à la matrice par des liaisons hydrogène, Z_2 et Z_2' les sommes statistiques pour le PP en solution et pour le PP entrant dans le NTP et lié à la matrice. On évalue q à près de 10^{-2}.

A 300 K, la condition de réplication (7.50) est remplie, tant que $c_{\text{PP}}/c_{\text{NTP}}$ ne dépasse pas 400. Ce rapport est beaucoup plus faible dans les cellules et dans les systèmes destinés à la synthèse. Cette condition est satisfaite, si le NTP s'y trouve en quantité suffisante. Si la réplication ne se produit pas, cela peut s'expliquer par des raisons cinétiques et non thermodynamiques.

Un traitement analogue de la dénaturation (§ 7.4) conduit à la différence d'énergies libres entre les chaînes séparées et la double hélice, qui s'écrit

$$\Delta G' = N\vec{E}_2 - 2NkT \ln q', \tag{7.51}$$

q' caractérisant la variation de l'entropie propre de la chaîne, rapportée à un nucléotide. On peut rendre q' égal au nombre de conformations du chaînon d'une chaîne isolée. Le chaînon comporte cinq liaisons simples avec deux ou trois conformations correspondant à la rotation autour de chacune d'elles. La valeur de q' est de l'ordre de 10 à 100. Selon (7.51), la température de la transition hélice-pelotes

$$T_{\text{fus}} = \frac{\vec{E}_2}{2k \ln q'} = \frac{E_{\text{AT}}}{2k \ln q'} + x\frac{E_{\text{GC}} - E_{\text{AT}}}{2k \ln q'}. \tag{7.52}$$

La dépendance expérimentale de T_{fus} (en K) avec x

$$T_{\text{fus}} = 342 + 41x$$

est obtenue, lorsque $E_{\text{AT}} = 19{,}7$, $E_{\text{GC}} = 22{,}3$ kJ/mol et $q' = 32$.

Ce calcul grossier ne peut s'appliquer qu'à estimer l'ordre de grandeur de ΔH et de ΔS.

Il va de soi que la réplication n'est possible qu'après déroulement de la double hélice de départ. La synthèse par réplication est toujours accompagnée de l'intervention de l'ADN-*polymérase* qui se déplacerait le long de la double hélice en la défaisant et en synthétisant de nouvelles chaînes (modèle de « fermeture éclair »). L'ADN du bactériophage φX174 ne renferme qu'un seul brin. Or, il est établi que la reproduction de ce phage passe par un stade de réplication, au cours duquel l'ADN se fait bihélicoïdal. C'est la double hélice qui est répliquée dans ce cas aussi. Cela est vrai également pour les ARN des virus, dont la réplication comporte un stade intermédiaire de double hélice. L'ADN à chaîne du phage φX174 est

circulaire, ainsi que les ADN en double hélice des autres phages et bactéries. C'est cet ADN qui a servi d'initiateur dans les expériences de Kornberg mentionnées plus haut (p. 263). Toutefois, seul l'ADN circulaire est biologiquement actif (présente de l'infectiosité). Kornberg s'est servi d'un autre enzyme, la *ligase*, pour fermer la nouvelle chaîne. Ces nouvelles chaînes étaient construites non pas avec la thymine, mais avec le bromuracile. Pour isoler l'ADN synthétique, le produit était rapidement traité à l'ADN-ase de façon à assurer une coupure du cercle chez à peu près la moitié des molécules. Il en résultait un mélange contenant des quantités égales de cercles initiaux, de cercles synthétiques, d'ADN initiaux et synthétiques ouverts, ainsi que de doubles cercles sans coupures. Ensuite, par sédimentation en gradient de densité, on en isolait les cercles synthétiques à bromuracile. Ces cercles se sont montrés aptes à infecter les cellules d'*E. coli*. Précédemment, on avait déjà établi que la substitution d'un seul de 5500 nucléotides de l'ADN du phage φX174 lui faisait perdre son infectiosité. La synthèse de Kornberg était donc tout à fait exacte.

Le déroulement de la double hélice d'ADN que l'on observe lors de la réplication (ou lors de la transcription : synthèse de l'ARNm, v. § 8.3) devrait se produire autrement que lors de la dénaturation. Le gain d'énergie libre dû à la formation de nouvelles chaînes est la cause de l'apparition d'un important moment de rotation. La polymérase, en se déplaçant le long de la double hélice, crée des conditions locales qui déséquilibrent la balance des interactions des chaînes. On suppose qu'elle empêche les interactions hydrophobes des bases.

On examine la cinétique de la réplication des ADN en utilisant le modèle élémentaire qui représente une matrice unidimensionnelle sorbant les NTP qui sont polycondensés de façon pratiquement irréversible sur une des extrémités de cette matrice. Selon des estimations grossières, la diffusion des NTP à partir de la solution vers la matrice est plus rapide que les processus se déroulant sur la matrice ; c'est le processus enzymatique qui limite la vitesse de la synthèse. Le calcul montre, en accord avec l'expérience, que la synthèse doit se produire sans aucune période d'induction.

Considérons le problème du point de vue théorique en nous référant au modèle de Maniloff (1969). Soit une matrice de N mailles. Le centre de croissance (la polymérase) se déplace de la première vers la N-ième maille. La synthèse est irréversible : le passage de la polymérase de l'i — 1-ième à l'i-ème maille est bien loin de l'équilibre. La constante de vitesse de croissance k_r est la même pour toute maille, la constante de vitesse d'initiation k_0 est de loin inférieure à k_r. La polymérase quitte rapidement la N-ième maille, sans que cela limite le processus. Le problème se ramène à considérer une migration irréversible dans un système unidimensionnel. Les équa-

tions cinétiques ont la forme

$$\begin{aligned} \dot{w}_1 &= k_0 - k_r w_1, \\ &\dots\dots\dots\dots \\ \dot{w}_i &= k_r w_{i-1} - k_r w_i, \\ &\dots\dots\dots\dots \\ \dot{w}_N &= k_r w_{N-1}, \end{aligned} \tag{7.53}$$

où $i = 2, 3, \ldots, N-1$ et w_i est la probabilité de trouver l'enzyme dans l'i-ème maille. Le degré moyen de polymérisation s'écrit

$$\bar{n}(t) = \sum_{i=1}^{N} i w_i(t) \left[\sum_{i=1}^{N} w_i(t) \right]^{-1}. \tag{7.54}$$

Aux conditions initiales $w_1(0) = \ldots = w_N(0) = 0$. La résolution du système (7.53) à l'aide de la transformation de Laplace-Carson se présente comme suit :

$$\begin{aligned} w_i(t) &= \frac{k_0}{k_r} \sum_{j=i}^{\infty} f(j), \quad i = 1, 2, \ldots, N-1, \\ w_N(t) &= k_0 t \sum_{j=N-2}^{\infty} f(j) - (N-1) \frac{k_0}{k_r} \sum_{j=N-1}^{\infty} f(j), \\ f(j) &= k_r (t)^j \frac{\exp(-k_r t)}{j!}. \end{aligned} \tag{7.55}$$

On obtient

$$2k_r \bar{n}(t) = 2k_r t \sum_{j=0}^{N-3} f(j) + (k_r t)^2 \sum_{j=0}^{N-4} f(j) + 2N k_r t \sum_{j=2}^{\infty} f(j) - N(N-1) \sum_{j=1}^{\infty} f(j). \tag{7.56}$$

Lorsque $k_r t \ll 1$, la probabilité $w_i \to 0$, $w_N \to 0$, $\bar{n} \to 1$: la synthèse n'a pas lieu. Pour $k_r t \gg 1$, on trouve $w_i \to k_0/k_r$, $w_N \to k_0 t$, $\bar{n} \to N$, i.e. la synthèse est totale. La constante de vitesse $k_r = p k_t$, p étant la probabilité pour la maille se trouvant devant le centre de croissance de contenir le monomère adsorbé et k_t la constante de vitesse de son incorporation à la chaîne en croissance. Le processus n'étant pas limité par la diffusion, p a une valeur d'équilibre et s'exprime par l'isotherme de Langmuir (cf. p. 224) :

$$p = \frac{a}{K + a}; \tag{7.57}$$

où $K = \exp(E/kT)$, E est l'énergie de sorption, $a = \exp(\mu/kT)$ l'activité absolue du NTP en solution, μ le potentiel chimique du NTP. Comme $\mu = \mu^0 + kT \ln(\gamma c)$, $a = Ac$, $A = \gamma \exp(\mu^0/kT)$,

où γ est le coefficient d'activité, c la concentration du NTP, μ^0 le potentiel chimique normal. Lorsque $p \ll 1$, $a/K \ll 1$ et

$$p = a/K = Ac \exp(-E/kT), \tag{7.58}$$

$$k_r = k_t Ac \exp(-E/kT). \tag{7.59}$$

Une augmentation brusque de $\bar{c}$ est nécessaire pour passer d'une petite à une grande valeur de $\bar{n}$. Une telle augmentation est peu probable lors de la division cellulaire. D'autre part, la courbe qui représente $\bar{n}$ en fonction de E est d'une forme en S et une faible variation de E suffit pour que la synthèse soit totale, ce qui peut être le résultat de la coopérativité du processus: de l'interaction des nucléotides voisins sur la matrice.

Cette interprétation est équivalente au traitement partant de la théorie des vitesses absolues de réaction (v. p. 186). La constante de vitesse de réaction d'un i-mère, dont la chaîne comporte à la fois deux nucléotides, peut s'écrire

$$k = \frac{kT}{h} p. \tag{7.60}$$

Expérimentalement, la vitesse de la synthèse des ADN atteint $1{,}8 \times 10^3$ monomères par seconde pour *E. coli* et $2 \cdot 10^2$ monomères par seconde pour les cellules du lymphome de la souris. D'où $p = 2{,}8 \times 10^{-10}$ pour *E. coli* et $p = 3{,}1 \cdot 10^{-11}$ pour le lymphome de souris. L'évaluation de l'énergie libre d'activation se rapportant à l'adsorption du NTP (mais non à l'incorporation du nucléotide à la chaîne) donne $G^{\ddagger} = 54{,}5$ kJ/mol pour *E. coli* et 34,9 kJ/mol pour la souris. Ces quantités sont déduites à l'aide de la constante d'équilibre du complexe activé que le n-mère forme avec deux nucléotides:

$$G^{\ddagger} = -RT \ln K^{\ddagger} = -RT \ln \frac{p}{\bar{n} c^2}. \tag{7.61}$$

Cette théorie simplifiée ne tient compte ni de l'hétérogénéité de la matrice, ni de la coopérativité du processus. Elle fournit néanmoins une description semi-quantitative raisonnable de la synthèse matricielle.

La synthèse enzymatique de polynucléotides est possible en l'absence d'une matrice. Dans ce cas le polymère se forme après une période latente, dont la durée décroît parallèlement à l'augmentation de la concentration de l'enzyme. C'est ainsi que se déroule, par exemple, la synthèse des poly-AT. Si l'initiateur est un oligomère, la période latente décroît rapidement, lorsque sa longueur augmente. Même des oligomères courts peuvent servir de matrices pour le polymère croissant qui glisse de la matrice. La théorie cinétique appropriée permet d'obtenir la dépendance de la durée de la synthèse du polymère avec sa longueur et avec la vitesse de séparation de la

chaîne d'avec la matrice, sur laquelle cette première s'est formée. Cette vitesse diminue brusquement, dès que la longueur de l'oligomère dépasse 4 nucléotides. Cela doit être la taille critique de la matrice permettant à la nouvelle chaîne de former une double hélice avec la matrice.

Dans une synthèse *in vitro* la formation du nouvel ADN se produit toujours dans le sens $5' \to 3'$. Or, selon certaines données, dans les conditions naturelles (*in vivo*) la réplication concernerait les deux chaînes: l'une dans le sens $5' \to 3'$, l'autre dans le sens $3' \to 5'$. Okazaki (1968) a expliqué ce phénomène par le mécanisme discontinu de la synthèse réplicative. Des segments courts du nouvel ADN seraient synthétisés sur une des chaînes (ou les deux à la fois) au point de réplication, toujours dans le sens $5' \to 3'$ (fig. 7.25). Ensuite ces segments se lieraient entre eux en formant des chaînes. Si ce modèle est correct, les dernières portions répliquées d'une ou des deux chaînes filiales peuvent être séparées. Une inhibition sélective temporaire de l'enzyme catalysant l'accumulation de liaisons phosphodiester entre les chaînes de l'ADN conduirait alors à une accumulation de nouvelles chaînes courtes. Cette hypothèse trouve des confirmations expérimentales: ainsi, on s'est assuré que la thymidine tritiée entrait dans des chaînes courtes qui ne se réunissaient que plus tard en chaînes longues.

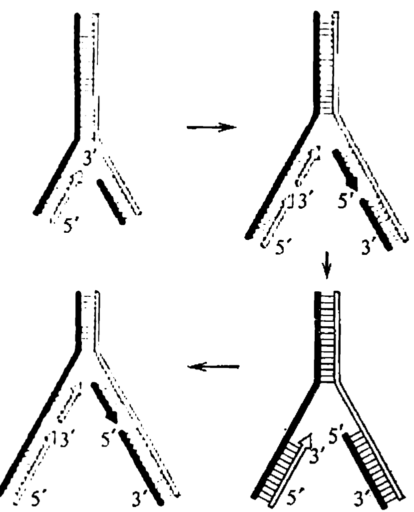


Fig. 7.25. Schéma de la réplication de l'ADN selon Okazaki

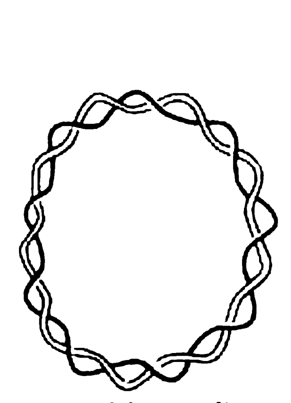
Toutefois, on ne peut pas affirmer que le mécanisme de la réplication des ADN *in vivo* est élucidé. La réplication *in vivo* commence à un certain stade de développement de la cellule avec intervention de facteurs qui seraient liés à la membrane cellulaire (modèle de *réplicon*).

§ 7.8. Topologie des ADN

Comme nous l'avons dit au chapitre 3, il existe une analogie poussée entre le mouvement brownien d'une particule et la chaîne polymère. La différence réside en ce que la chaîne polymère ne peut présenter de croisements, car il est impossible de faire coïncider dans l'espace deux atomes différents. Cette circonstance trouve son expression dans les effets stériques (§ 3.5). Cette stéricité de la chaîne

polymère détermine également les singularités du comportement des polymères circulaires et, notamment, de la forme circulaire des ADN.

La forme circulaire fermée (CF) est caractéristique des ADN des protozoaires, ainsi que de l'ADN cytoplasmique des animaux. La plupart des ADN viraux passent par cette forme au cours de l'infection des cellules. La forme en question est représentée sur la figure 7.26. On peut facilement se rendre compte que chacune de deux chaînes complémentaires de la double hélice est fermée, ce qui fait que



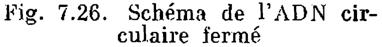


Fig. 7.26. Schéma de l'ADN circulaire fermé

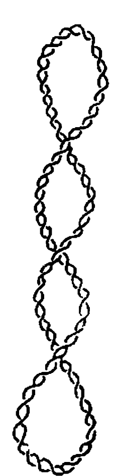


Fig. 7.27. Schéma de l'ADN circulaire fermé en superhélice

les chaînes sont passées l'une dans l'autre. La forme CF de l'ADN présente des contraintes topologiques qui limitent strictement l'ordre d'enchaînement des deux chaînes complémentaires. Il va de soi que ces contraintes disparaissent, dès qu'une des chaînes au moins se trouve rompue.

L'invariant topologique est le paramètre qui caractérise la forme CF des ADN. Comme on l'a déjà indiqué (§ 7.2), la quantité Lk est l'ordre d'enchaînement de deux chaînes complémentaires : nombre algébrique d'intersections, par une des chaînes, de la surface revêtant la seconde chaîne. Dans le cas représenté sur la figure 7.26, $Lk = 9$; dans les conditions réelles Lk est de l'ordre de 10^2. La quantité

$$\tau = Lk - \frac{N}{\gamma_0} \tag{7.62}$$

est dite nombre de superspires de l'ADN CF. Ici N est le nombre de paires de bases dans l'ADN, γ_0 le nombre de paires de bases par spire de la double hélice de l'ADN linéaire. Dans la forme B ordinaire des ADN, $\gamma_0 = 10$. Si $\tau \neq 0$, l'ADN CF forme une superhélice. La quan-

tité τ est toujours négative ; la densité des superspires définie comme $\sigma = 10\tau/N$ l'est également. Les valeurs expérimentales de $-\sigma$ sont comprises entre 0,03 et 0,10. Un ADN circulaire fermé en superhélice est montré sur la figure 7.27. Il est établi que la superspiralisation négative est indispensable pour le bon fonctionnement des ADN CF à l'intérieur de la cellule. La réplication des ADN est impossible en l'absence de superspiralisation. Les cellules comportent un enzyme spécial, l'ADN-girase, responsable de cette superspiralisation négative. La présence de la superspiralisation dans l'ADN facilite la formation des zones déroulées où les chaînes complémentaires ne sont pas enroulées l'une sur l'autre. L'existence de ces zones abaisse la tension dans la double hélice et fait croître son affinité pour l'ARN-polymérase, etc.

On dispose de diverses techniques pour déterminer le nombre de tours de superhélice: indirectement, en considérant la fixation des ligands ou directement, par électrophorèse sur gel. Cette dernière méthode est extrêmement sensible: elle permet de distinguer des molécules, dont τ ne diffère que de l'unité.

Grâce à la découverte et l'étude des ADN CF, la théorie dite des nœuds et des enchaînements (TNE) est devenue très actuelle. Cette théorie possède des techniques de calcul des intégrales statistiques pour les chaînes fermées. Dans ces cas-là le domaine d'intégration doit se limiter à la partie de l'espace des phases qui correspond aux états topologiquement équivalents du système. On a développé à cette fin des méthodes numériques pour ordinateur qui utilisent une classification des différents nœuds et enchaînements.

La quantité *Lk* est un invariant lors des réorganisations conformationnelles des ADN CF, au cours desquelles les deux brins de l'ADN demeurent continus. Ce sont les expériences dans lesquelles *Lk* varie qui renseignent sur les caractéristiques conformationnelles et énergétiques des ADN CF. Ces variations sont provoquées par l'action des enzymes appropriés dits topoisomérases. Certains de ces enzymes modifient la topologie des ADN CF en coupant et en liant de nouveau un des brins de la double hélice. L'électrophorèse sur gel a aidé à déterminer la distribution des molécules d'ADN CF suivant la valeur de *Lk*. Le maximum de la distribution d'équilibre correspond toujours à $\tau = 0$. La distribution est gaussienne, la formule empirique

$$P(\tau) \sim \exp\left(-1000\frac{\tau^2}{N}\right)$$

se vérifie pour $N \geqslant 3000$. On a tiré de ces expériences la dépendance de l'énergie libre d'un ADN CF avec le nombre de superspires:

$$G \simeq -RT \ln P(\tau) \simeq 1000\, RT\frac{\tau^2}{N}.$$

Un traitement théorique des mêmes résultats a permis de déterminer, pour la première fois, la rigidité en torsion de la double hélice d'ADN :

$$g = 0{,}036\ RT,$$

ce qui correspond à l'amplitude quadratique moyenne des fluctuations thermiques de la valeur de l'angle φ formé par deux paires de bases voisines, égale à 5°. Les données relatives à la cinétique de dépolarisation d'un colorant lié à l'ADN conduisent à des résultats analogues.

En ce qui concerne la rigidité en flexion de la double hélice d'ADN, elle peut être caractérisée par la valeur de la longueur persistante, égale à 57 ± 10 nm.

L'ADN en superhélice est très stable, sa température de fusion est plus élevée et son intervalle de fusion plus large. Fait remarquable : la largeur de cet intervalle ne dépend pas de la stabilité relative des paires AT et GC. Cela a été constaté dans les expériences, où la fusion d'un ADN en superhélice était étudiée en présence de 3 M de bromure de tétraéthylammonium et de 7,3 M de $NaClO_4$. Dans le premier cas les températures de fusion des paires AT et GC sont identiques ($T_{GC} = T_{AT} \cong 0$ °C), dans le second ces températures sont fort différentes ($T_{GC} - T_{AT} \cong 56$ °C). Toutefois, les courbes de fusion de l'ADN en superhélice sont les mêmes dans les deux cas. La théorie traitant les chaînes d'ADN comme des bandes fines parvient à expliquer ces effets.

CHAPITRE 8

PHYSIQUE DE LA BIOSYNTHÈSE DES PROTÉINES

§ 8.1. Problème du code génétique

Le gène est une partie de la macromolécule d'ADN, responsable de la synthèse d'une chaîne protéique. L'ADN renferme l'information sur la structure primaire de la protéine: information génétique. Elle est codée dans la structure primaire de l'ADN, i.e. dans la séquence de ses nucléotides. Certains virus portent leur programme génétique dans des molécules d'ARN.

Quelle est la correspondance entre la séquence des nucléotides dans l'ADN et l'ARN et la séquence des résidus acides aminés dans la chaîne protéique? C'est en cela que consiste le problème du code génétique.

C'est un problème physique. Premièrement, la question posée concerne la correspondance entre les contenus informationnels de l'ADN et de la protéine; deuxièmement, elle concerne les relations quantitatives entre les nucléotides et les acides aminés, relations qui dépendent au bout du compte des interactions moléculaires dans la synthèse matricielle de la protéine: de la reconnaissance moléculaire. Troisièmement, il s'agit du sens physique du code génétique et, quatrièmement, de son origine évolutive.

C'est un physicien (Gamow, 1953) qui formula le premier le problème du code génétique et plusieurs physiciens contribuèrent à l'élucider. Cependant, le décodage est dû à des méthodes biologiques et chimiques et non pas physiques.

Le texte protéique est écrit avec un alphabet de 20 lettres, alors que le texte des ADN (ou des ARN) n'utilise que quatre lettres. Un raisonnement élémentaire montre que le rapport de codage (nombre de nucléotides codant pour un résidu acide aminé) ne peut être inférieur à trois. En effet, le nombre de combinaisons de quatre objets pris 2 à 2 vaut $4^2 = 16 < 20$, alors que $4^3 = 64 > 20$, si on les prend 3 à 3.

Gamow a émis l'hypothèse que la chaîne protéique était assemblée directement sur la double hélice de l'ADN, chaque acide aminé occupant le creux entre quatre nucléotides. Ce creux a une forme quasi rhombique. Deux nucléotides appartiennent à une des chaînes,

deux autres à l'autre chaîne. Un des nucléotides de la première chaîne forme une paire de Watson-Crick avec le nucléotide correspondant de la seconde chaîne. Le « code de carreau » de Gamow fournit exactement 20 « lettres ». Chaque « lettre » (losange) est constituée de quatre nucléotides. Le nombre de combinaisons de 4 objets pris 4 à 4 est égal à $4^4 = 256$. Mais il existe des contraintes, car la petite diagonale du losange unit obligatoirement A à T ou G à C. Si l'on pose identiques les formes droites et gauches des losanges, par exemple,

$$\begin{matrix} & G & \\ A\cdots & T & \end{matrix} \equiv \begin{matrix} & G & \\ T & \cdots A, \\ & A & \end{matrix}$$

on n'aura que 20 losanges différents.

Le « code de carreau » présente des chevauchements. Comme chaque losange comprend des nucléotides appartenant à trois paires successives, deux nucléotides qui se trouvent d'un même côté du losange sont communs à deux losanges voisins. C'est ainsi qu'une corrélation apparaît entre deux résidus acides aminés adjacents. Un résidu donné ne peut être suivi de n'importe quel des 20 résidus, mais seulement de quelques-uns. Or, des études ultérieures ont démontré que le code chevauchant était incompatible avec l'expérience, car en réalité on voit les résidus acides aminés se suivre sans contrainte aucune. L'absence de corrélation rend impossible le décodage théorique, spéculatif.

L'impossibilité du code chevauchant découle également de l'absence de substitutions par mutation de deux résidus adjacents d'une protéine. La mutation d'un nucléotide commun à deux résidus adjacents devrait provoquer une telle substitution double.

Le rapport de codage a été déterminé expérimentalement au cours d'une étude génétique effectuée par Crick et col. (1961) qui s'occupaient de la région *r*II du génome du phage T4 se reproduisant dans les cultures d'*E. coli*. Il a été établi que les mutations dans cette région, provoquées par des colorants acridiniques, consistaient dans un enlèvement (*délétion*) de nucléotides et dans leur insertion. Le type sauvage *w* se multiplie sur les souches *B* et *K*12 d'*E. coli*. Les mutants *r* ne se développent que sur les souches *B* en formant des plages de lyse nettement visibles. Certains mutants de ce type sont aptes à redevenir sauvages (*w*). Selon l'analyse génétique, ces mutants réverses ne résultent pas d'une mutation inverse $r \to w$, mais de l'apparition d'une seconde mutation de suppression $w \to r$ au voisinage de la première. Chacune des deux mutations conduit, prise isolément, à la perte de l'aptitude à synthétiser la protéine correspondante, mais deux mutations combinées dans un gène restituent cette aptitude. Au total, on a examiné près de 80 mutants *r*, y compris leurs combinaisons doubles et triples : suppresseurs des suppresseurs et suppresseurs des supresseurs des suppresseurs. Tous les suppres-

seurs se sont trouvés appartenir à deux classes: + (insertion de nucléotide) et — (délétion). Si la mutation initiale *r* est +, son suppresseur est — et inversement. Le phénotype sauvage est donné par les combinaisons + —, — +, + + +, — — —, mais jamais + +, — —, + + + +, — — — —.

Tous ces faits s'expliquent, si l'on admet que le code est triplet, non chevauchant et « lisible » par ordre de succession en commençant par un nucléotide déterminé. Représentons la chaîne d'un ADN

C	ABC	ABC	ABC	ABC	ABC	ABC	ABC	ABC	A	a)
C	ABC	A—CA	BCA	BCA	BCA	BCA	BCA	BCA	B	b)
C	ABC	ABC	ABC	ABC	A+AB	CAB	CAB	CAB	C	c)
C	ABC	A—CA	BCA	BCA	+ABC	ABC	ABC	ABC	A	d)
C	ABC	ABC	A+AB	CAB	CAB	C—BC	ABC	ABC	A	e)
C	ABC	A—CA	BCA	B—AB	CAB	C—BC	ABC	ABC	A	f)
C	ABC	AB+B	CAB	CA+A	BCA	BC+C	ABC	ABC	A	g)

Fig. 8.1. Textes d'ADN:

a) type sauvage, *b*) mutant (délétion), *c*) mutant (insertion), *d*), *e*) doubles mutants + —, *f*) triple mutant — — —, *g*) triple mutant + + +. On a hachuré les portions altérées du texte

par une suite de lettres: ABCABC . . . (fig. 8.1, *a*). L'emplacement de chaque lettre peut être occupé par n'importe quel des quatre nucléotides A, T, G, C. La lecture du code, si l'on commence par une lettre déterminée, équivaut à appliquer sur cette suite un cadre à fente. Si une des lettres est enlevée (—) ou, par contre, ajoutée (+), tout ce qui suit le site de mutation se trouve perturbé: une protéine normale du type sauvage ne peut plus se former (fig. 8.1, *b*. *c*). En cas d'une mutation de suppression (— + ou + —), l'ordre des nucléotides n'est perturbé que dans la région comprise entre deux mutations (fig. 8.1, *d*, *e*). Si cette région n'est pas trop longue, la protéine synthétisée peut garder sa fonction: c'est alors la *réversion*. Les figures 8.1, *f* et *g* fournissent l'explication des réversions pour trois mutations de même type: — — — et + + +. Il est également clair, pourquoi les mutations de même type ne produisent pas de réversions, lorsqu'elles sont doubles, quadruples ou quintuples.

On tire de ces résultats un *rapport de codage* multiple de trois. Il est naturel de supposer que ce rapport vaut exactement trois. Cette hypothèse a été confirmée plus tard par l'étude directe de la

structure primaire de la protéine synthétisée. Les « mutations de décalage de cadre » (frame shift mutations) sont aussi observées pour le gène producteur de lysozyme du phage T4. On s'est persuadé que les « décalages du cadre de lecture » perturbaient effectivement le texte protéique. Le double mutant réverse de la lysozyme diffère du type sauvage par une perturbation concernant cinq résidus:

Type *w* sauvage . . . Thr Lys Ser Pro Ser Leu Asn Ala . . .
Réverse
(type pseudo-*w*) . . . Thr Lys Val His His Leu Met Ala . . .

Cette étude génétique a fourni la réponse à quelques questions d'ordre physique. On a déterminé le rapport de codage, on a démontré la colinéarité du code et le fait que le code est à lire en commençant par un nucléotide déterminé et qu'il ne comporte pas de virgules, i.e. d'éléments matériels séparant les *codons.* On appelle codons les triplets de nucléotides successifs codant pour les résidus acides aminés. Le nombre total des codons s'élève à $4^3 = 64$.

Cela pose le problème de la *dégénérescence du code*. Le nombre total de codons (64) étant supérieur à celui d'acides aminés (20), il s'agit de savoir combien il faut de codons différents par résidu. « Dégénérescence » a ici le sens physique et non biologique.

L'étude des mutations de décalage de cadre fournit un témoignage direct de la dégénérescence du code. Examinons de nouveau les fragments de lysozyme représentés ci-dessus. Si le code n'est pas dégénéré, les deux codons pour l'His dans le mutant réverse seront identiques. Désignons-les par ABCABC. Si, par contre, le décalage est provoqué par l'addition d'un nucléotide à gauche et le codon pour le Pro est BCA, la relation entre le type sauvage et le double mutant sera

. . . Pro Ser
A BCA BCA . .
. ABC ABC .
. . . His His

Mais il s'ensuit que le codon pour le Ser est également BCA. Cette contradiction n'est levée que si l'on admet l'existence de codons différents pour l'His.

Une autre preuve de la dégénérescence du code consiste dans le fait que la composition moyenne des protéines varie peu d'un organisme à un autre, alors que les variations de la composition des ADN peuvent être très importantes (le taux de G + C variant entre 25 et 75 %). Parallèlement, une série de faits prouvent l'universalité du code.

L'étude des mutations, induites par agents chimiques ou spontanées, témoigne aussi de l'état dégénéré du code. L'acide nitreux

provoque la substitution du groupe amine par l'hydroxyle:

$$-NH_2+HNO_2 \rightarrow -OH+N_2+H_2O.$$

Ainsi, le nitrite transforme C en U, G en xanthine at A en hypoxanthine. Après réplication, la xanthine et l'hypoxanthine sont remplacées par G. On a donc, finalement, les substitutions C → U

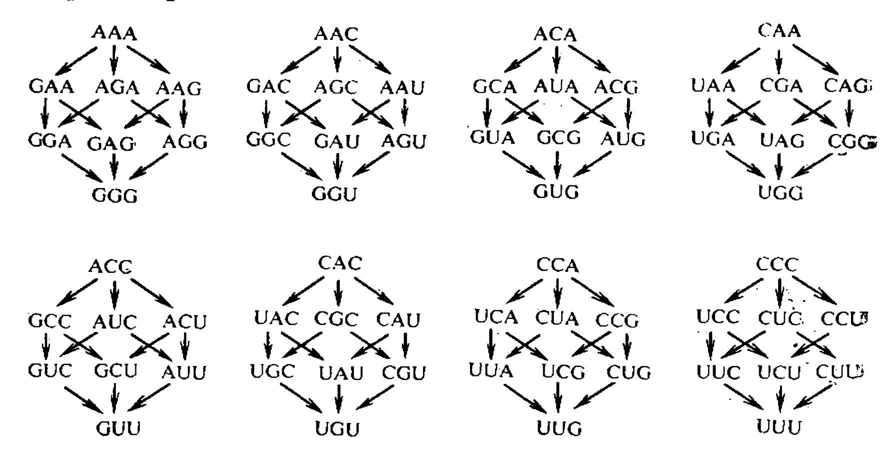


Fig. 8.2. Octets de codons

et A → G. 64 codons triplets peuvent être représentés par huit octets (Wittmann). La figure 8.2 représente ces octets, les flèches indiquant les mutations ponctuelles dues au nitrite. Les substitutions obser-

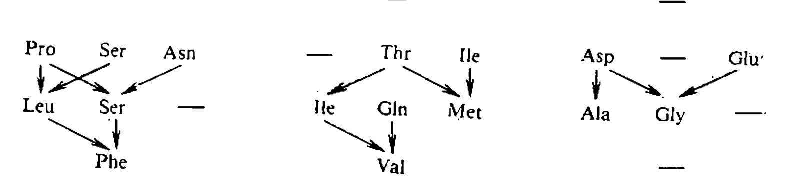


Fig. 8.3. Correspondance entre les octets et les résidus acides aminés, déduite des mutations du virus de la mosaïque du tabac induites par le nitrite

vables dans la protéine du virus de la mosaïque du tabac (VMT) se répartissent suivant les mêmes octets. Selon Wittmann, au moins le Ser ou l'Ile (fig. 8.3) seraient codés par plusieurs triplets, le code étant dégénéré. En même temps, il découle de ces données que la plupart des substitutions dans une protéine résultent de la substitution d'un seul nucléotide du codon.

Depuis, ces hypothèses ont été maintes fois confirmées. Le code génétique est triplet, non chevauchant, dépourvu de virgules et dégénéré. Le code est universel, étant commun à tous les organismes, des

virus à l'homme. (D'ailleurs, selon un résultat récent, le code utilisé au cours de la synthèse de la cytochrome-oxydase dans les mitochondries serait quelque peu différent de l'universel (v. p. 296).) Le décodage complet a demandé des expériences biochimiques directes qui ne sont devenues possibles qu'après la découverte du mécanisme de la biosynthèse des protéines.

§ 8.2. Biosynthèse des protéines

L'existence même d'une structure primaire fixe de la chaîne protéique constitue une preuve de la présence, dans la cellule, d'un programme d'édification de cette structure. Le « texte » ne peut résulter de rencontres fortuites de plusieurs acides aminés: ainsi qu'un texte d'imprimerie, il doit se « composer » sur une matrice. Koltsov le comprenait déjà longtemps avant la découverte du rôle des acides nucléiques. Il pensait que c'était également une protéine qui jouait le rôle de matrice responsable de la synthèse des protéines. Nous savons aujourd'hui que ce rôle incombe aux molécules d'ADN et d'ARN. La « composition du texte » requiert un code génétique. Le principe matriciel de la biosynthèse des protéines est fondamental pour la biologie moléculaire et la biophysique moléculaire.

L'information contenue dans les gènes, i.e. dans les ADN, est transmise par les ARNm au cours de la *transcription*. La synthèse des protéines se déroule précisément sur les ARNm. Le « *dogme central* » de la biologie moléculaire est exprimé par le schéma de la transmission d'information génétique:

$$\text{ADN} \rightarrow \text{ARN} \rightarrow \text{Protéine}. \qquad \text{(A)}$$

L'information n'est jamais transmise de la protéine à l'acide nucléique.

En 1970 Temine et Baltimore ont découvert une *transcription inverse*, l'information génétique étant transmise d'un ARN à un ADN:

$$\text{ARN}' \rightarrow \text{ADN} \rightarrow \text{ARN} \rightarrow \text{Protéine}. \qquad \text{(B)}$$

L'existence d'une transcription inverse (v. § 8.3) ne contredit en rien le « dogme central ». Bien sûr, en réalité ce n'est pas un dogme, mais une loi de la nature.

L'ARN messager (matriciel) transporte l'information génétique des *chromosomes*, où elle est conservée, vers les *ribosomes*, sur lesquels la biosynthèse est réalisée. Cette dernière se produit en présence de substances de départ (acides aminés), dans les conditions thermodynamiques et cinétiques requises.

Les acides aminés figurent dans la cellule à l'état libre. Leur polycondensation directe est un processus endergonique: elle s'accompagne d'une augmentation d'énergie libre d'environ 12 kJ/mol

par liaison peptidique formée. Dans la cellule, la polycondensation d'aminoacides est conjuguée à la réaction exergonique de déphosphorylation de l'ATP (v. p. 40). L'acide aminé qui entre en réaction de biosynthèse est activé:

$$\text{Aminoacide} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Enzyme}} \text{Aminoacyladénylate} + \text{PP}$$

(PP — pyrophosphate). La structure de l'aminoacyladénylate, dans lequel l'acide aminé est activé, est la suivante:

$$\begin{array}{ccccccccc} & & \text{R} & & \text{O} & & \text{O} & & \\ & & | & & \| & & \| & & \\ H_3N^+ & — & \text{CH} & — & \text{C} & —\text{O}— & \text{P} & — & \text{O}—\text{Adénosine} \\ & & & & & & | & & \\ & & & & & & \text{O}^- & & \end{array}$$

L'enzyme aminoacyl-ARNt-synthétase catalyse la réaction de formation d'aminoacyladénylate, ainsi que le transfert de l'aminoacide ainsi activé sur l'extrémité de la molécule-adapteur d'ARNt. Voici le schéma de cette seconde réaction:

$$\begin{array}{ccc} & \text{O} & \\ & \| & \\ H_3N^+—\text{CHR}—\text{CO}— & \text{P} & —\text{O}—\text{Adénosine} + \text{ARNt} \xrightarrow{\text{Enzyme}} \\ & | & \\ & \text{O}^- & \end{array}$$

$$\rightarrow H_3N^+—\text{CHR}—\text{CO}—\text{ARNt} + \text{AMP}$$

L'énergie nécessaire pour la biosynthèse est mise en réserve dans la liaison chimique entre l'aminoacide et l'ARNt.

A chaque acide aminé correspond un ou plusieurs ARNt spécifiques (v. § 8.4).

La synthèse des protéines se déroule sur les ribosomes. Ce sont des particules nucléoprotéidiques composées de protéines et d'ARN *ribosomaux* (ARNr). Les ribosomes assurent la bonne interaction entre les ARNm et les ARNt portant les acides aminés, ainsi que la polycondensation des acides aminés en chaîne polypeptidique. Le rôle organisateur du ribosome a un caractère enzymatique (v. § 8.5).

Le ribosome se fixe sur l'extrémité 5′ de l'ARNm qui correspond à l'extrémité *N* de la chaîne polypeptidique. Le ribosome avance le long de la chaîne d'ARNm en « lisant le texte » de codon en codon de façon que les codons du complexe ARNm-ribosome fixent successivement les ARNt liés aux acides aminés (ARNt-AA). Chaque ARNt portant un acide aminé interagit par complémentarité avec le codon de l'ARNm en utilisant son *anticodon*. L'anticodon est un triplet complémentaire du codon de l'ARNm. Le processus est schématisé sur la figure 8.4. Dans le ribosome représenté on assiste à l'addition successive de deux ARNt-AA aux n-ième et $(n + 1)$-ième codons de l'ARNm. Une liaison peptidique se forme entre les aminoacides correspondants et la chaîne protéique croissante est trans-

férée du n-ième ARNt-AA sur le $(n + 1)$-ième, après quoi le n-ième ARNt se détache, alors que le ribosome qui porte le $(n + 1)$-ième ARNt avec la chaîne croissante qui y est liée, se déplace d'un codon. Dans cette nouvelle position le ribosome interagit avec les $(n + 1)$-ième et $(n + 2)$-ième codons de l'ARNm. Une chaîne d'ARNm porte non pas un seul, mais plusieurs ribosomes qui se déplacent chacun

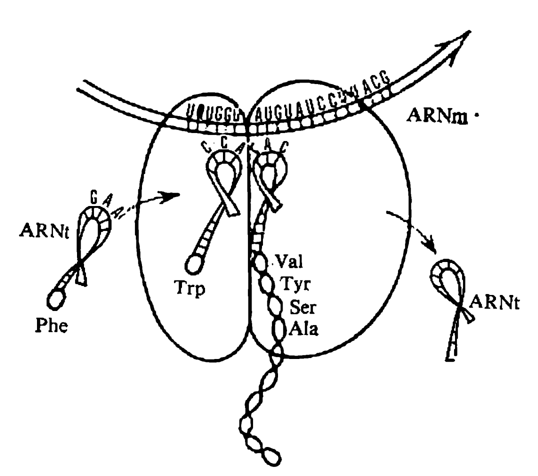


Fig. 8.4. La fixation de l'ARNt porteur d'un acide aminé sur l'ARNm dans le ribosome

avec sa chaîne protéique en train de croître. Le système ARNm-ribosomes, qui ressemble à un fil avec des perles, est dit *polysome*. Ainsi, plusieurs chaînes protéiques identiques sont synthétisées sur une seule chaîne d'ARNm. La synthèse des chaînes protéiques sur le polysome est ce qu'on appelle *traduction* : expression d'un texte nucléotidique en termes d'acides aminés qui se fait à l'aide du code génétique jouant le rôle de dictionnaire codons-acides aminés. Le schéma général de la synthèse des protéines est montré sur la figure 8.5.

Ainsi, la chaîne protéique est synthétisée *de novo* à partir d'acides aminés et non pas de blocs polypeptidiques préexistants. Ensuite la chaîne (ou plusieurs chaînes) sert à l'assemblage d'une molécule protéique biologiquement fonctionnelle.

Cette succession des événements lors de la biosynthèse est bien complexe, mais toutes ses étapes sont caractérisées par un principe unique qui est à la base de la biophysique moléculaire. Ce principe est la *reconnaissance moléculaire* réalisée au moyen d'interactions faibles (v. p. 60). La biosynthèse fait intervenir quatre types d'acides nucléiques : ADN, ARNm, ARNr et ARNt. La « reconnaissance » se produit entre les nucléotides des chaînes complémentaires des

ADN, entre les nucléotides des ADN et ceux des ARNm, entre les codons des ARNm et les anticodons des ARNt. La reconnaissance est également réalisée lors des interactions des acides nucléiques avec les enzymes et les ribosomes.

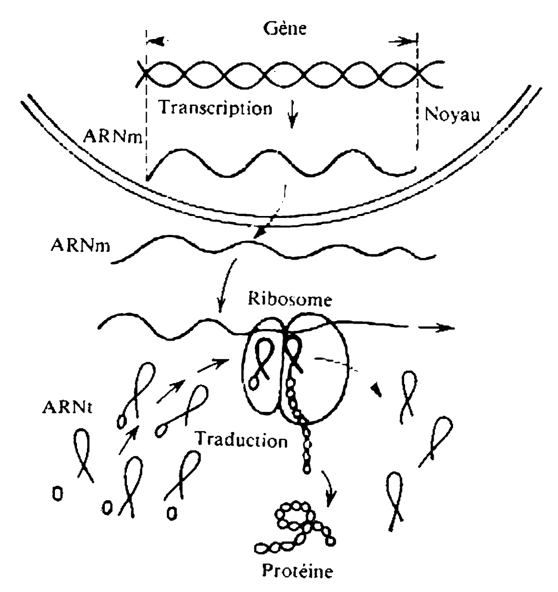


Fig. 8.5. Schéma général de la synthèse d'une protéine

La précision de la reconnaissance des bases azotées est montrée dans le tableau 8.1. Les paires complémentaires AU et GC se trouvent effectivement être les plus stables : ainsi, AU est beaucoup plus résistante qu'AA ou UU. Mais des paires non complémentaires peu-

Tableau 8.1

Constantes d'association K (mol^{-1}) pour l'appariement des bases dans les solvants non polaires C_6H_6 et CCl_4 à 25 °C

	U	A	C	G
U	15 *45*	*550*	*50*	$< 10^3$
A	150	8 22	*50*	$< 10^3$
C	< 28	< 28	28 *50*	$> 10^3$
G	$< 1{,}12 \cdot 10^3$	$< 1{,}2 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^4$	$1{,}2 \cdot 10^3 \sim 10^3$

On a étudié les ribonucléosides substitués en *2'*, *3'*, *5'*-O ; les valeurs de K dans C_6H_6 sont données en caractères droits, dans CCl_4 en italiques.

vent également se former, ce qui est une des causes importantes des mutations.

Comme le montre l'étude de l'association d'oligonucléotides, c'est l'appariement de triplets qui favorise le plus la fonction biologique. Les doublets possèdent des valeurs de K trop faibles, alors que les unités de 4 éléments fournissent un couplage trop fort. La durée de vie de la paire codon-anticodon ne doit pas dépasser quelques millisecondes, car autrement elle limitera la vitesse de fonctionnement du système biologique.

Ainsi, un jeu complexe de forces faibles conduit à la formation de liaisons chimiques (peptidiques) fortes. La formation des liaisons chimiques et les effets mécaniques, tels que le déplacement de l'*ARN-polymérase* le long de la chaîne d'ADN (v. § 8.3), le travail du ribosome et son déplacement le long de la chaîne d'ARNm (v. § 8.5) consomment une certaine énergie. Cette énergie est fournie par les nucléoside-triphosphates macroergiques ATP et GTP.

L'exposé qui suit sera consacré à un examen plus détaillé de la biosynthèse des protéines et des substances qui y interviennent.

§ 8.3. Transcription directe et inverse

La transcription du texte d'ADN en texte d'ARN, i.e. la synthèse des ARN sur la matrice d'ADN, se produit par l'intervention de l'ARN-polymérase. N'est transcrit que le texte d'une des deux chaînes formant la double hélice d'ADN. L'ARN-polymérase possède une structure complexe. Les fonctions de cet enzyme sont multiples: reconnaissance du site d'initiation de la synthèse et fixation spécifique de l'ADN dans ce site, initiation de la synthèse de l'ARN, synthèse de l'ARN, terminaison de la chaîne synthétisée et départ de l'enzyme de la matrice.

A forces ioniques faibles l'ARN-polymérase est un dimère de masse moléculaire près de 10^6, caractérisé par la constante de sédimentation 23 S. Lorsque les forces ioniques sont supérieures à 0,1 M l'enzyme se dissocie réversiblement en deux monomères 13 S. Le monomère 13 S comporte quatre sous-unités: β (M.M. 150 000), β' (165 000), deux sous-unités α (40 000 chacune) et un facteur σ (80 000). Cette structure complexe de la polymérase est liée à la multiplicité des fonctions de cet enzyme.

L'ARN-polymérase est plus active dans le cas d'un ADN en double hélice que dans celui d'un ADN à brin unique. La transcription *in vivo* se fait à partir d'un ADN bihélicoïdal, bien que, comme on l'a déjà mentionné, une seule chaîne soit « lue ». Dans le site de croissance de la chaîne d'ARN on assiste donc à un déroulement local de la double hélice. La méthode au formaldéhyde permettant de détecter les défauts dans la double hélice d'ADN a effectivement montré son déroulement lors de l'interaction avec

l'enzyme. Les vitesses de la synthèse d'ARN *in vivo* et *in vitro* (dans les conditions optimales) sont voisines: 20 à 30 nucléotides par seconde.

La transcription s'accompagne donc d'une transformation conformationnelle de l'ADN, le déroulement. Les ARN-polymérases se fixant sur une chaîne d'ADN sont très espacées: ces transformations ne concernent donc qu'une petite fraction de la double hélice qui est bien longue. Mais il est possible d'étudier les caractéristiques conformationnelles des complexes formés par l'ARN-polymérase avec de petits fragments d'ADN. Ces complexes s'obtiennent en traitant un complexe ADN-polymérase à l'enzyme ADN-ase.

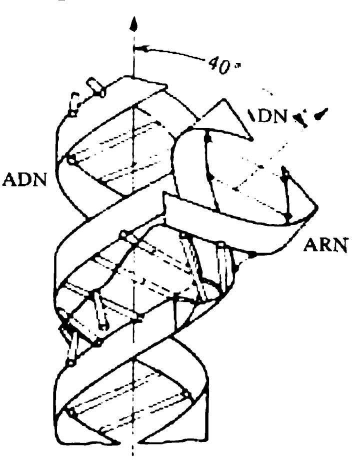


Fig. 8.6. Structure de la matrice bihélicoïdale d'ADN et de l'extrémité croissante d'un ARN lors de l'action de l'ARN-polymérase

Florentiev et Ivanov ont proposé un modèle de fonctionnement de l'ARN-polymérase (1970). Au cours de la croissance de la chaîne d'ARN on assiste à la fixation de l'hydroxyle en 3′ du ribose par le phosphate en 5′ du nucléotide attaquant. On suppose que lors du déroulement de l'ADN et de la formation de la double hélice hybride ADN-ARN la matrice d'ADN fonctionne non pas sous sa forme ordinaire *B*, mais sous la forme *A*. A chaque pas de la transcription une nouvelle base est « extraite » de la matrice d'ADN et le désoxyribonucléotide, dont le ribonucléotide complémentaire a été privé de son pyrophosphate, retourne dans l'ADN en rétablissant ses liaisons hydrogène. L'axe de la double hélice hybride avance par un mouvement hélicoïdal le long de la double hélice d'ADN en entraînant l'enzyme. La figure 8.6. représente sous une forme schématique un ADN en double hélice et l'extrémité croissante de l'ARN lors de l'action de l'ARN-polymérase. L'énergétique de la transcription se ramène à conjuguer les stades exergoniques et endergoniques. Il s'y agit au fond d'IEC: de l'interaction des degrés de liberté chimiques et conformationnels. Le modèle retrouve bien les résultats expérimentaux.

La transcription inverse (synthèse d'un ADN sous le contrôle d'un ARN), découverte en tant qu'une des étapes de la reproduction des virus oncogènes à ARN (v. p. 278), est d'un grand intérêt pour la biologie et la biophysique moléculaires. La transcription inverse requiert également la participation d'un enzyme baptisé *transcriptase inverse*. Cette transcriptase possède trois fonctions: celle d'ADN-

polymérase assurant la synthèse d'un ADN complémentaire (ADNc) à chaîne unique sur la matrice d'ARN ; celle de polymérase, responsable de la synthèse de la seconde chaîne d'ADN, l'*anti*-ADN qui forme la double hélice avec l'ADNc ; enfin, celle de ribonucléoside hydrolysant l'ARN dans la double hélice ARN-ADN. La transcriptase inverse peut fonctionner avec tous les ARN.

La transcription inverse permet de résoudre des problèmes importants. En transposant les séquences des nucléotides d'ARN en termes d'ADN, on arrive à déterminer, rapidement et avec une bonne précision, la structure primaire des ADN. Le schéma de la méthode (Sanger, 1975) est le suivant :

$$\text{ARN} \rightarrow \text{ADNc} \rightarrow \text{ADN en double hélice} \rightarrow$$
$$\rightarrow \text{ADN recombinants} \rightarrow \text{fragments de restriction} \rightarrow$$
$$\rightarrow \text{analyse des fragments.}$$

On obtient les ADN recombinants en multipliant l'ADN en double hélice obtenu par les techniques du *génie génétique*. La *restriction* qui consiste à couper la double hélice en certains endroits déterminés est effectuée à l'aide d'*enzymes de restriction* appropriés. On analyse les fragments obtenus par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Actuellement on sait déterminer les séquences de plusieurs milliers de nucléotides des ADN, i.e. les structures des gènes.

Le génie génétique doit son apparition à la transcription inverse. On synthétise des gènes de structure complets en double hélice et on les introduit dans des *plasmides* ou des phages qui interviennent dans la reproduction des molécules d'ADN. Les ADN transcrits aident à isoler les gènes. La transcription inverse donne la possibilité d'examiner les génomes des virus, de décoder les défauts moléculaires provoquant les maladies héréditaires du sang, d'étudier les mécanismes moléculaires responsables de la transformation des cellules normales en tumorales.

Les structures des transcriptases inverses (protéines de taille considérable) ne sont pas encore établies. La transcriptase inverse native des oncornavirus des oiseaux a une constante de sédimentation de 7,5 S. Les transcriptases inverses ont une structure quaternaire.

Les ADN-polymérases, ARN-polymérases, transcriptases inverses comportent obligatoirement des ions Zn^{++} en qualité de cofacteurs. Un témoignage de plus en faveur de l'intérêt de la chimie biominérale pour la biologie (p. 22).

§ 8.4. ARN de transfert

Les ARN de transfert (ARNt) constituent à peu près 10 % de la quantité totale d'ARN dans la cellule. C'est par les ARNt qu'a débuté l'étude de la structure primaire des acides nucléiques (Holley,

Baev). Aujourd'hui on connaît les structures primaires d'une centaine de molécules d'ARNt d'origines différentes. Il existe 20 familles d'ARNt qui correspondent à 20 acides aminés.

Des ARNt différents ont en principe une structure secondaire du même type. Cela se comprend, vu les fonctions des molécules d'ARNt qui consistent à reconnaître le codon d'ARNm dans le ribosome et à introduire l'acide aminé dans la chaîne protéique. Seul l'ARNt initiateur porteur de méthionine a une structure quelque peu différente.

On peut rendre évidente la structure secondaire d'un ARNt en posant que les bases complémentaires A et U, ainsi que G et C forment des paires et que les portions non appariées ont la forme de boucles (p. 243). Alors tous les ARNt connus peuvent être représentés sous la forme d'un *trèfle* à quatre ou cinq portions bihélicoïdales (fig. 8.7).

Quatre portions sont invariables, alors que la cinquième, généralement la plus petite, présente des variations. Le « trèfle » est une projection plane de la molécule d'ARNt qui ne traduit que sa topologie: disposition des sections bihélicoïdales.

Toumanian s'est appliqué à déterminer la structure secondaire de l'ARN en partant de la séquence des nucléotides (1966). L'algorithme comporte deux étapes. D'abord, on construit une matrice triangulaire embrassant toutes les paires possibles selon une règle simple: l'élément a_{ij} se trouvant au croisement de l'i-ème colonne et de la j-ième ligne, vaut 1 ou 0, suivant que l'i-ème et le j-ième nucléotide sont respectivement complémentaires ou non. Pour tenir compte des différences d'énergie libre entre les paires GC et AU, on substitue à 1 les poids correspondants. La seconde étape consiste à construire les « épingles maximales », i.e. à trouver la structure secondaire avec une seule région en double hélice ayant la plus grande énergie libre négative. Ensuite on trie, d'une façon assez limitée, les structures secondaires suivant le nombre d'épingles maximales trouvées.

Plus tard Tinoco (1971) a précisé les valeurs des énergies libres de formation des différentes paires et boucles.

En ce qui concerne la structure secondaire des ARNt, Eigen a démontré qu'on pouvait la trouver à l'aide d'un modèle de jeu. « Le jeu à l'ARNt ou comment faire des trèfles » se présente comme suit. On distribue à chacun des joueurs une suite accidentelle de N unités appartenant à quatre classes (A, U, G, C), ainsi qu'un dé tétraédrique, dont chaque face correspond à une de ces lettres. Les joueurs jettent leur dé à tour de rôle, puis, en disposant les lettres échues d'une manière déterminée, chaque joueur tâche d'obtenir une structure en deux chaînes ayant le nombre maximal de paires AU et GC. Le jeu est terminé, lorsqu'un des joueurs déclare avoir obtenu une structure « complète ». Le gagnant est celui qui a assemblé, à ce moment, le plus de points. Les points sont attribués pour les paires; on peut, par exemple, compter deux points par paire GC et un point

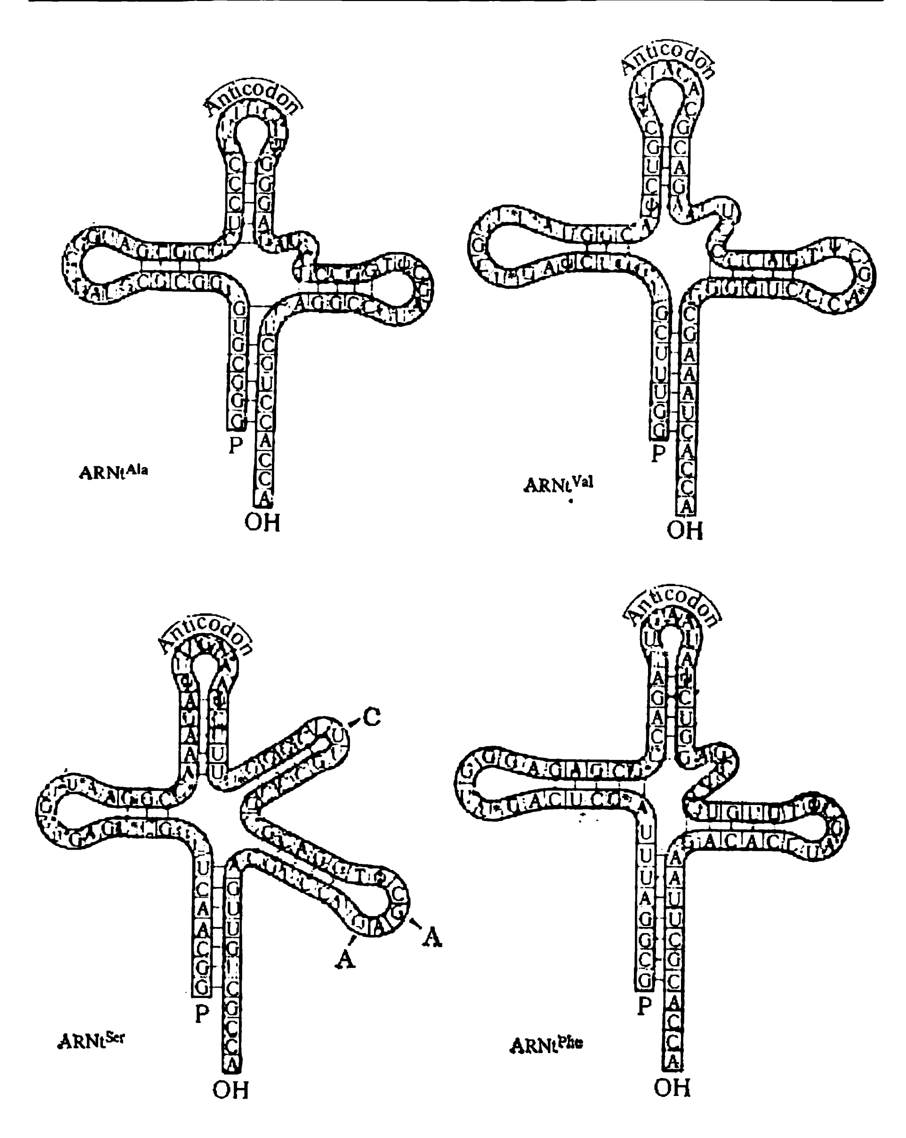


Fig. 8.7. Structures secondaires de quelques ARNt (ψ, A*, U*, G*, I étant les nucléotides mineurs)

par paire AU. On ne peut former des paires que s'il y a une suite continue : 2GC ou GC, 2AU ou 4AU (règle de coopérativité). Pour former une boucle, chaque structure doit posséder au moins 5 positions non appariées (cf. fig. 8.7). Le joueur jette son dé pour toute posi-

tion de la suite qu'il indique d'avance. Lorsque $N = 80$, on obtient toujours, effectivement, une structure en trèfle à 3 ou 4 folioles. L'épingle qui n'a qu'une seule boucle comporte le nombre maximal de bases pouvant s'apparier. Mais le trèfle permet d'essayer un nombre beaucoup plus important de combinaisons, car il offre la possibilité de déplacer chaque foliole de façon indépendante, ce qui donne, dès le début, beaucoup plus de combinaisons. « Il paraît que la Nature s'amuse à ce jeu depuis longtemps », écrit Eigen. Il semble qu'un jeu analogue peut être appliqué à la résolution du problème relatif à l'interdépendance des structures primaire et spatiale des protéines (§ 4.6).

La structure spatiale d'un ARNt natif est bien compacte. Un ARNt thermiquement dénaturé est apte à la renaturation. Rich (1972) a décodé la structure de l'ARNt^{Phe} par radiocristallographie. Cet ARNt est constitué par deux segments hélicoïdaux joints à l'angle droit en Γ. La structure est représentée sur la figure 8.8. La structure compacte de l'ARNt se trouve stabilisée par les interactions horizontales et verticales dans les portions bihélicoïdales, assemblées sous l'action de forces hydrophobes et électrostatiques. Les ions Mg^{++}, indispensables pour maintenir la structure native, compensent les charges négatives des groupes phosphate.

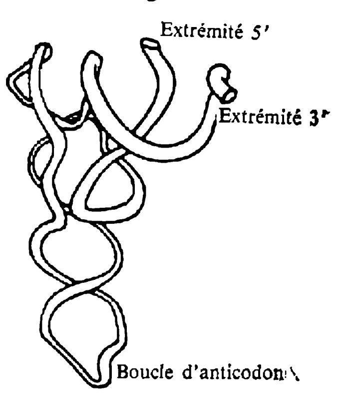


Fig. 8.8. Structure spatiale de l'ARNt^{Phe} (Rich)

Le spectre DC de l'ARNt présente des maximums positifs intenses à 264 nm ($\Delta\varepsilon \sim 5{,}5$) et à 188 nm ($\Delta\varepsilon \sim 18$), les maximums négatifs se situant à 296 nm ($\Delta\varepsilon = -0{,}35$), 233 nm ($\Delta\varepsilon = -1{,}0$), 210 nm ($\Delta\varepsilon \sim -5{,}0$). Ces bandes sont sensibles aux caractéristiques conformationnelles.

L'étude de la migration d'énergie entre la base luminescente se trouvant dans la boucle anticodonique de la molécule d'ARNt^{Phe} et les chromophores (colorants acridiniques) fixés par covalence sur l'extrémité adhésive, a permis d'évaluer la distance qui les sépare en accord avec les données structurales.

§ 8.5. Traduction

La traduction du texte polynucléotidique des ADN et des ARNm en texte protéique d'acides aminés s'effectue dans les complexes (polysomes) que les ribosomes forment avec les chaînes polyribonucléotidiques.

Les ribosomes sont observables à l'aide d'un microscope électronique (fig. 8.9) sous l'aspect de granules arrondis ayant 15 à 25 nm

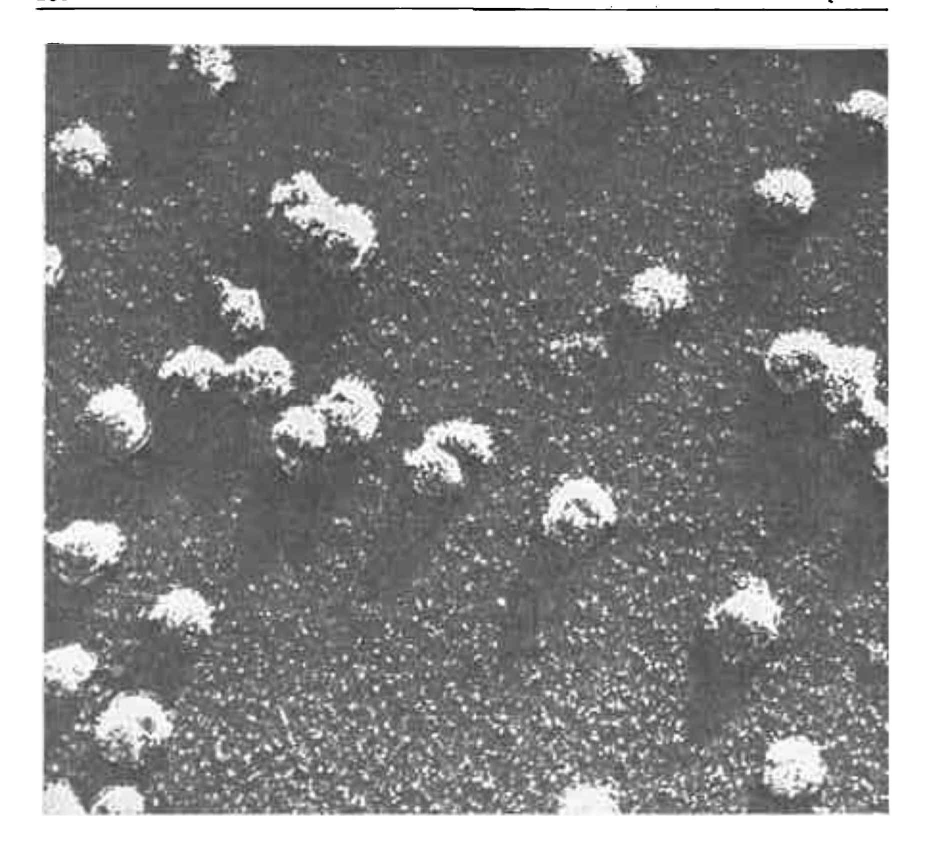


Fig. 8.9. Les ribosomes vus au microscope électronique (Vassiliev) (× 500 000)

de diamètre. Les caractéristiques des ribosomes figurent dans le tableau 8.2.

Les ribosomes des eucaryotes (cellules à noyau) se caractérisent par une valeur plus élevée de $S^0_{20,\,w}$ (80 S au lieu de 70 S), une masse moléculaire de $(4,1$ à $4,7)\cdot 10^6$ et une taille également un peu plus grande (volume sec $5\cdot 10^3$ nm^3). Les ribosomes 70 S sont composés de deux sous-unités 30 S et 50 S qui se séparent, lorsqu'on diminue la concentration en ions bivalents (Mg^{2+}) ou lorsqu'on augmente la concentration en ions univalents. La masse moléculaire des particules 50 S est $1,8\cdot 10^6$, celle des particules 30 S $(0,7$ à $1,0)\cdot 10^6$. La forme et les dimensions des particules 70 S, 50 S et 30 S sont montrées sur la figure 8.10 (cf. fig. 8.9).

Les ARN des ribosomes constituent près de 65 % de leur poids à sec, le reste incombant aux protéines. Ces ARN se divisent en trois classes: 23 à 28 S, M.M. $\geqslant 1\cdot 10^6$; 16 à 18 S, M.M. $< 1\cdot 10^6$ et les

Tableau 8.2

Caractéristiques physiques des ribosomes d'*E. coli*

Constante de sédimentation $S^0_{20,w}$ (unités Svedberg)	69,1 à 70,5
Viscosité intrinsèque [η], cm^3/g	6,1 à 6,8
Coefficient de diffusion de translation $(D^0_{20,w} \cdot 10^7$	1,83
Volume spécifique, cm^3/g	0,64 à 0,60
Masse moléculaire	$\sim 3 \cdot 10^6$
Dimensions à l'état sec, nm	$\sim 20 \times 17 \times 17$
Volume, nm^3	$\sim 3 \cdot 10^3$
Dimensions en milieu aqueux, nm	$\sim 30 \times 30 \times 20$
Volume, nm^3	$\sim (3 \text{ à } 10) \cdot 10^3$
Quantité d'eau retenue, g/g	0,9

ARN bas-moléculaires 5 S, d'une masse moléculaire de l'ordre de 40 000. Probablement, les molécules protéiques agissent sur les portions non hélicoïdales des ARNr et le complexe ribonucléoprotéidique s'enroule en formant la structure compacte de la sous-unité ribosomale. Un ribosome 70 S renferme près de 65 chaînes polypeptidiques de masse moléculaire moyenne 65 000. Les particules 30 S comportent 19 ou 20 variétés de protéines, les particules 50 S en ont plus de 50.

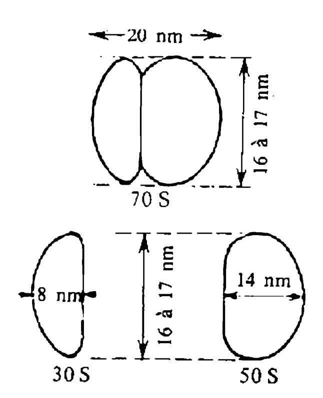


Fig. 8.10. Schéma des particules 70 S, 50 S et 30 S

Un « démontage » complet de quelques ribosomes et leur reconstruction à partir des protéines et des ARNr obtenus ont été effectués par Nomura (1966-1969). Le rôle des ARNr, spécifique, n'est pourtant pas absolu : les particules 30 S fonctionnelles s'obtiennent à partir des ARNr 16 S d'une espèce bactérienne et des protéines 30 S ribosomales d'une autre espèce. On a isolé en tout 19 protéines. L'absence de chacune d'elles se répercute sur le fonctionnement de la particule 30 S. Toutes les protéines agissent de façon concertée, ce qui est également nécessaire pour l'*auto-assemblage*. La cinétique de l'auto-assemblage est celle d'une réaction d'ordre 1, ce qui suppose l'existence d'une réorganisation lente d'un certain système intermédiaire qui limite le processus. Une forte dépendance de la vitesse d'auto-assemblage avec la température montre que cette réorganisation consomme une énergie libre de l'ordre de 160 kJ/mol de ribo-

somes. L'auto-assemblage *in vitro* d'un ribosome à partir de tous ses constituants dure près de 5 minutes.

Le bon fonctionnement des ribosomes dans la biosynthèse protéique requiert la présence dans leur composition de protéines spéciales dites *facteurs de transfert* qui s'unissent au ribosome en présence de cations bivalents. Ces facteurs sont encore insuffisamment étudiés. Les ions bivalents (Mg^{2+} dans une concentration d'au moins 0,005 M) sont également indispensables pour que les ribosomes puissent entrer en interaction avec les ARNm ou des polyribonucléotides artificiels. Chaque ribosome ne se lie qu'à une seule chaîne polynucléotidique. La fixation s'effectue à l'intérieur de la sous-unité 30 S. Dans le complexe triple ribosome-ARNm-aminoacyl-ARNt le dernier fixe par son anticodon le codon de l'ARNm. Cette reconnaissance et ce couplage ont également lieu dans la sous-unité 30 S.

La traduction débute par l'*initiation*: synthèse d'une première liaison peptidique. Y participent simultanément deux complexes aminoacyl-ARNt. Il a été établi qu'un de ses complexes, initial, est toujours le N-formylméthionyl-ARNt qui présente une affinité marquée pour le site de ribosome situé sur la sous-unité 50 S et responsable de la fixation des peptidyl-ARNt. Le codon initiateur de l'ARNm est l'AUG, se trouvant près de l'extrémité *5'* du polynucléotide (v. plus loin, p. 295). Ce codon serait préalablement fixé par le site de fixation des aminoacyl-ARNt de la sous-unité 30 S. L'initiation peut être schématisée comme suit sous sa forme générale (F — formyle):

$$\begin{matrix} 50\ S \\ | \\ 30\ S \end{matrix} + F\text{—Met-ARNt} \rightleftharpoons \begin{matrix} 50\ S \\ | \\ 30\ S \ldots \text{AUG} \end{matrix} +$$

$$+ F\text{—Met-ARNt} \rightleftharpoons \begin{matrix} 50\ S \\ | \\ 30\ S \end{matrix} \begin{matrix} \cdot^{\cdot} F\text{—Met-ARNt} \rightarrow \\ \\ \cdot_{\cdot} \text{AUG} \end{matrix}$$

$$\rightarrow \begin{matrix} 50\ S & \ldots F\text{—Met-ARNt} \\ | & \vdots \\ 30\ S & \vdots \\ & \text{AUG} \end{matrix}$$

Ensuite on voit se produire une polycondensation successive des acides aminés. Durant toute la traduction le polypeptide en croissance demeure attaché au ribosome. La fixation de chaque aminoacyle suivant se produit sur l'extrémité *C* du polypeptide. L'ARN de transfert ayant apporté un aminoacyle reste fixé à ce dernier. Cet aminoacyle s'unit à la chaîne au moyen de la substitution de l'ARNt par un complexe aminoacyl-ARNt. On a

$$\text{Peptidyl } (n)\text{-ARNt}' + \text{aminoacyl-ARNt}'' \rightarrow$$
$$\leftarrow \text{peptidyl } (n+1)\text{-ARNt}'' + \text{ARNt}'.$$

Ce processus se répète plusieurs fois dans chaque ribosome. Spirin a proposé un modèle concret représentant le fonctionnement du ribosome (fig. 8.11). On fait l'hypothèse que les sites fixant les aminoacyl-ARNt et les peptidyl-ARNt se localisent sur les sous-unités différentes, respectivement, sur la 30 S et sur la 50 S (fig. 8.11, *b*). Le fragment 50 S porte un centre peptidyltransférasique qui assure le transfert du peptidyle. Il se produit une ouverture et une fermeture périodiques du ribosome. Le ribosome de la figure 8.11, *c* est

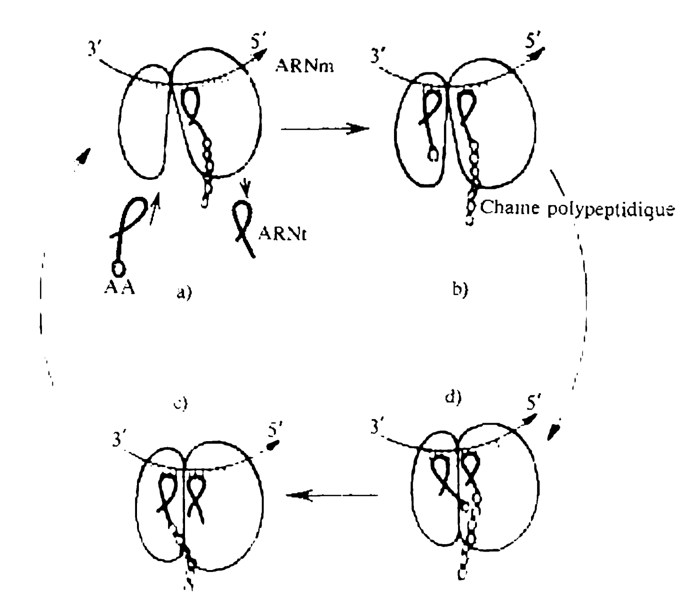


Fig. 8.11. Cycle de fonctionnement d'un ribosome selon Spirin

en position fermée, l'extrémité aminoacylique du complexe aminoacyl-ARNt étant placée tout contre le carboxyle estérifié du peptidyle. La fermeture des sous-unités du ribosome (*b* → *d*) s'accompagne de la formation d'une liaison peptidique. Le carboxyle est transféré sur le groupe amine du complexe aminoacyl-ARNt, la sous-unité 50 S ne gardant qu'un ARNt désacylé (fig. 8.11, *c*). Ensuite il y a translocation : l'ARNt du complexe peptidyl-ARNt passe du fragment 30 S sur le fragment 50 S en entraînant le codon (lié à cet ARNt) de l'ARNm et en déplaçant l'ARNt désacylé du site de fixation de peptidyl-ARNt. Le ribosome s'ouvre de nouveau (fig. 8.11, *a*). Puis un nouvel complexe aminoacyl-ARNt arrive sur un nouvel codon du fragment 30 S et le cycle recommence. Cette ouverture-fermeture périodique du ribosome est, selon Spirin, le

mécanisme d'entraînement qui assure les déplacements spatiaux des ARNt et des ARNm au cours de la traduction. Le changement périodique de la structure quaternaire du ribosome se transforme en mouvement de translation de la chaîne d'ARNm. C'est un processus mécano-chimique: le travail mécanique est réalisé par l'énergie dégagée lors de la fixation par les forces faibles et par l'énergie chimique du GTP. La fermeture du ribosome est amorcée par l'arrivée, dans le ribosome, de l'aminoacyl-ARNt, l'ouverture exigeant l'énergie du GTP. Cependant, comme l'ont montré Gavrilova et Spirin, le ribosome peut fonctionner, *in vitro*, sans le GTP. L'aptitude à cette *traduction non enzymatique* serait propre à la structure même du ribosome.

Une théorie physique quantitative de tous ces événements n'existe encore pas. Selon des résultats expérimentaux, la traduction dépend de la conformation de l'ARNm et le complexe actif du ribosome subit effectivement, lors de la traduction, des changements conformationnels périodiques.

Comme nous l'avons déjà mentionné, une des chaînes de l'ARNm s'unit à une série de ribosomes en formant un polysome. La taille du polysome est fonction de la longueur de la chaîne de l'ARNm. On compte approximativement un ribosome par 80 à 90 nucléotides de la chaîne. Lors de la synthèse des protéines à quelque 150 résidus acides aminés le polysome comporte 4 à 6 ribosomes; lorsqu'il s'agit de synthétiser des chaînes protéiques plus longues, le polysome peut contenir 12 à 20 ribosomes ou plus. Une seule chaîne d'ARNm assure ainsi la synthèse de plusieurs chaînes protéiques. L'ARN messager dégrade ensuite sous l'action de l'enzyme *exonucléase* que l'on connaît encore mal. Un ribosome, en se fixant sur l'extrémité $5'$ de l'ARNm, le protège contre la dégradation. Après le départ du ribosome la portion $5'$-terminale dégrade ou bien fixe un autre ribosome. L'extrémité dégradée est incapable de fixer un ribosome, mais ceux qu'elle avait fixés auparavant continuent à se mouvoir en synthétisant des chaînes protéiques. La synthèse d'une chaîne composée de 400 résidus dure à peu près 30 s. Le temps τ que le ribosome met à parcourir la distance moyenne δ entre deux ribosomes du polysome, est de l'ordre de 3 s, ce qui correspond à une vitesse linéaire d'environ 10^{-6} cm/s.

Le modèle mathématique qui décrit ces processus permet de calculer la distribution des tailles des ARNm en bon accord avec l'expérience.

De façon générale, la biosynthèse des protéines est déterminée par les vitesses de la transcription et de la traduction. Ces vitesses seraient comparables: en marquant les ARNm avec des atomes radioactifs, on observe une corrélation entre les longueurs des ARNm et des polysomes marqués, les ARNm marqués libres n'étant pas observés.

§ 8.6. Déchiffrement du code génétique et son sens

Nirenberg et Matthaei (1961) ont tracé le droit chemin menant à la résolution du problème. Lorsqu'ils introduisaient des polyribonucléotides synthétiques dans un système acellulaire, les acides aminés se rassemblaient en une chaîne polypeptidique. Le système acellulaire contenait des ribosomes, un jeu d'ARNt, de l'ATP, tous les enzymes nécessaires, mais il n'y avait pas là-dedans d'ADN et d'ARNm. On le préparait en détruisant des cellules d'*E. coli*. On en séparait par centrifugation deux fractions: ribosomique et celle se trouvant juste au-dessus du précipité. Les ribosomes étaient lavés, l'autre fraction contenant les enzymes et les ARNt était dialysée au moyen d'un tampon spécial. Au mélange de ces deux fractions épurées on ajoutait un système générateur d'ATP: source d'énergie. On introduisait des polyribonucléotides synthétiques dans le système acellulaire et on examinait l'incorporation des acides aminés marqués à ^{14}C dans la fraction insoluble dans l'acide trichloracétique, i.e. dans les polypeptides. On a pu « tromper » le système biologique: les ribosomes ont réagi avec le polyribonucléotide synthétique qui a remplacé l'ARNm naturel. Il s'est trouvé que la chaîne de poly-U stimulait la polycondensation de la phénylalanine et la chaîne de poly-C celle de la proline.

C'est ainsi qu'ont été trouvés les premiers codons. Si le code est triplet, le codon UUU doit correspondre à la Phe et le codon CCC à la Pro. Puis on a étudié l'action de copolymères de composition connue, mais où les nucléotides sont disposés sans aucun ordre. Dans un tel copolymère on connaît la fréquence d'apparition des triplets d'une composition déterminée. Le copolymère AU stimule, lorsqu'il est dans le rapport 1 : 5, l'insertion de Phe, Leu, Ile ainsi que, dans une proportion moins élevée, de Asn et Lys dans la chaîne polypeptidique. Si l'on pose que la part du triplet 3U est égale à 100, celle de 1A2U sera égale à 20 (3U/1A2U = 5), celle de 2A1U à 4 (3U/2A1U = = 25) et celle de 3A à 0,8 (3U/3A = 125). En comparant ces valeurs avec les taux d'insertion (égal à 100 dans le cas de la Phe), on peut déterminer la composition des codons pour les résidus acides aminés mentionnés (tableau 8.2).

On a ainsi établi les triplets 3U pour la Phe, 1A2U pour la Tyr, 2A1U et 1A2И pour l'Ile, 1A2U pour la Leu, 2A1U pour l'Asn, 3A et 2A1U pour la Lys. Par la suite il s'est avéré que le dernier triplet ne codait pas pour la Lys, alors que tous les autres résultats ont été confirmés.

Mais ces expériences ne permettent pas de décrypter complètement le code. On ne sait toujours pas, lequel des trois codons, AUU, UAU ou UUA, code pour la Tyr et ainsi de suite. Dans ses expérien-

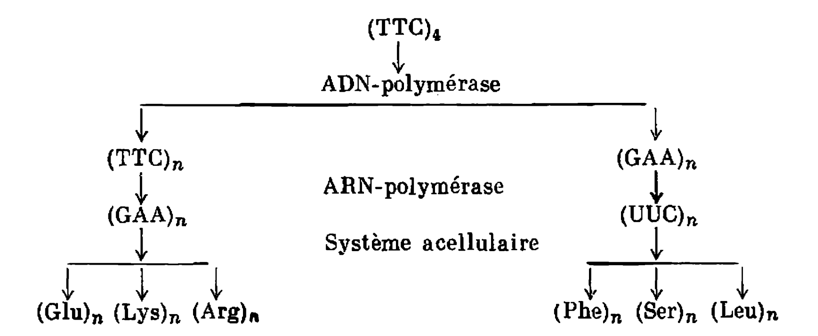
ces suivantes Nirenberg a utilisé non plus des polynucléotides, mais des trinucléotides de composition connue. Alors on voit se former, dans les systèmes, des complexes trinucléotide-ARNt-acide aminé (aminoacyle). Le polypeptide n'est plus synthétisé, mais, le trinucléotide imitant le codon, la formation du complexe permet de le lire. Pour y arriver, il faut examiner tous les ARNt qui se fixent

Tableau 8.2

Triplets de codage obtenus en partant des expériences relatives au poly-AU (1 : 5)

Résidu acide aminé	Proportions calculées des tripletes				Somme des fractions	Taux d'insertion de l'acide aminé
	3A	2A1U	1A2U	3U		
Asn	—	4	—	—	4	6,6
Ile	—	4	20	—	24	20
Leu	—	—	20	—	20	15
Lys	0,8	4	—	—	4,8	3,1
Tyr	—	—	20	—	20	25
Phe	—	—	—	100	100	100

successivement sur des aminoacides marqués. C'est ainsi que l'on a examiné tous les 64 triplets et déterminé les aminoacides auxquels ils étaient liés. Le décodage définitif qui a confirmé ces résultats, a été réalisé en 1966 par Khorana. Il a synthétisé des oligodésoxyribonucléotides constitués par des triplets de structure connue qui se répétaient (tel $(TTC)_4$). Un tel oligomère était utilisé comme matrice pour synthétiser *in vitro* un polymère ressemblant à un ADN. La synthèse était effectuée dans un système comprenant les nucléoside-triphosphates T, C, G, A, l'ADN-polymérase et les ions nécessaires (cf. p. 263). Cette synthèse fournissait une double hélice analogue à celle des ADN. Les deux chaînes de l'hélice contenaient des triplets complémentaires qui se répétaient *n* fois. Ensuite chacune des chaînes était utilisée comme matrice pour la transcription qui consistait à synthétiser un polyribonucléotide à l'aide de l'ARN-polymérase. Khorana a donc obtenu deux chaînes qui imitaient un ARNm et pour lesquelles on connaissait la séquence des triplets qui se répétaient. Les deux chaînes étaient introduites dans un système acellulaire où l'on déterminait l'insertion de l'acide aminé dans la fraction polypeptidique suivant la technique de Nirenberg. Ces expériences élégantes ont donné la possibilité de vérifier six codons dans une même synthèse fractionnée d'après le schéma :



Le polymère (GAA)$_n$ renferme les codons GAA, AAG et AGA; le polymère (UUC)$_n$ les codons UUC, UCU et CUU. La fonctionnalité des homopolymères (AAA)$_n$, (CCC)$_n$, (GGG)$_n$ et (UUU)$_n$ étant déjà

x \ y	A	C	G	U	z
A	Lys Asn Lys Asn	Thr	Arg Ser Arg Ser	Ile Ile Met Ile	A C G U
C	Gln His Gln His	Pro	Arg	Leu	A C G U
G	Glu Asp Glu Asp	Ala	Gly	Val	A C G U
U	— Tyr — Tyr	Ser	— Cys Trp Cys	Leu Phe Leu Phe	A C G U

Fig. 8.12. Tableau du code génétique

déterminée, il suffit, pour vérifier les 60 codons restants, d'effectuer 10 expériences analogues.

Le code génétique établi par ces techniques est représenté sur la figure 8.12. Chaque codon d'ARN est désigné par *xyz*.

Les codons GUG (Val) et AUG (Met) codent pour ces résidus acides aminés au milieu de la chaîne protéique. En même temps, ils servent d'initiateurs de la synthèse de la chaîne en codant, sur son

extrémité *N*-terminale, pour la formylméthionine:

$$H_3C-S-CH_2-CH_2-\underset{\displaystyle CO-OH}{\overset{\displaystyle NH-CO-H}{CH}}$$

Si la matrice artificielle ne renferme pas ces codons, on assiste à la synthèse de chaînes commençant par un chaînon quelconque et ayant de ce fait des extrémités *N*-terminales différentes. Par contre, en présence de GUG ou d'AUG on voit se former des extrémités F-Met-terminales normales. Toutefois, les protéines naturelles ne contiennent pas la formylméthionine. Dans le système acellulaire provenant d'*E. coli* il se forme les chaînes avec les extrémités *N*-terminales F-Met-Ala, F-Met-Ser, mais jamais F-Met-Met. Les protéines naturelles d'*E. coli* ont normalement sur leur extrémité *N*-terminale les résidus Met, Ala ou Ser. On peut croire que les systèmes vivants disposent de deux enzymes, dont un détache la formylméthionine de la chaîne, l'autre détachant le groupe formyle de la Met.

Les codons UAA, UAG et UGA sont terminaux. Responsables de la rupture de la chaîne protéique, ils ne codent pour aucun résidu acide aminé.

Le code génétique a un caractère universel. Les mêmes codons agissent de façon analogue dans les différents organismes. L'universalité du code est directement prouvée par la reproduction de phages et de virus dans les cellules. L'ADN ou l'ARN viral utilise la machinerie biosynthétique de la cellule pour synthétiser ses propres protéines. D'autre part, il est établi que le poly-U stimule l'incorporation de la Phe dans les systèmes acellulaires préparés aussi bien de cellules de mammifères que de celles d'algues. La même chose est vraie pour les autres polynucléotides synthétiques. La technique « trinucléotique » de Nirenberg, appliquée aux systèmes acellulaires tirés des cellules de la grenouille *Xenopus laevis* et des cellules du cochon d'Inde, a conduit aux mêmes résultats.

La seule exception connue à l'universalité du code a déjà été mentionnée à la page 278. Lors de la synthèse de la cytochromoxydase dans les mitochondries de l'homme le codon AUA code non pas pour l'Ile, mais pour la Met et le codon UGA ne spécifie plus la rupture de la chaîne, mais le Trp. Le tableau du code s'en trouve être plus symétrique, conformément à la prévision d'Ičas qui l'a faite en 1969, dix ans avant cette découverte.

Le déchiffrement du code génétique est la plus grande réalisation de la biologie moléculaire, de la biochimie et de la biophysique. Un peu plus de dix ans séparent la formulation du problème de sa résolution complète: c'est un délai bien court.

L'établissement du code a posé de nouveaux problèmes. Le code génétique, a-t-il un sens physique, moléculaire ou bien la corrélation

entre codons et acides aminés est aléatoire? Que peut-on dire, à ce propos, sur l'origine et l'évolution du code? Quel rapport existe-t-il entre les mutations ponctuelles et les singularités du tableau de code? Quels sont les facteurs qui influencent la lecture du code, les processus de transcription et de traduction? Les réponses (très incomplètes) à ces questions seront données dans la suite de notre exposé. Ici nous n'insisterons que sur le sens physique du code.

Tout d'abord, il faut prendre en considération la nature de la dégénérescence des codons (fig. 8.12). Pour 32 d'entre eux, i.e. pour la moitié de tous les codons, il y a dégénérescence totale suivant le troisième nucléotide z. Autrement dit, l'acide aminé est complètement défini par deux premiers nucléotides, x et y, et ne dépend pas du nucléotide z. Dans le cas des codons doublement dégénérés la nature de l'aminoacide est différente pour $z = A$, G (purine) et pour $z = C$, U (pyrimidine).

Seize doublets xy peuvent être divisés en deux groupes de huit de façon à avoir dans le premier octet les doublets xy codant pour un résidu acide aminé indépendamment de z et dans le second octet tous les autres doublets (Rumer). Cela est montré dans le tableau 8.3.

Tableau 8.3

Système de codons

Premier octet				Second octet				
x	y	n	Résidu (z = A, G, U, C)	x	y	n	Résidu (z = A, G)	Résidu (z = U, C)
G	G	6	Gly	G	A	5	Glu	Asp
G	C	6	Ala	A	G	5	Arg	Ser
C	G	6	Arg	U	G	5	Term. (z = A) Trp (z = G)	Cys
C	C	6	Pro	C	A	5	Gln	His
C	U	5	Leu	A	A	4	Lys	Asn
G	U	5	Val	A	U	4	Ile (z = A) Met (z = G)	Ile
A	C	5	Thr	U	A	4	Term.	Tyr
U	C	5	Ser	U	U	4	Leu	Phe

Dans les colonnes n on trouve les nombres de liaisons hydrogène entre les nucléotides xy du codon et les nucléotides $x'y'$ de l'anticodon, complémentaires de ces premiers. Les doublets xy du premier et du second octet ont des compositions bien différentes. A ne se rencontre qu'une seule fois dans le premier octet; dans le second c'est

le cas de C. Dans le premier octet pour x, ainsi que pour y, (G + C)/(A + U) = 3 ; dans le second octet (G + C)/(A + U) = 1/3. La valeur de n que l'on pourrait baptiser degré de complémentarité est égale à 6 et à 5 ($\bar{n}$ = 5,5) dans le premier octet et à 5 et à 4 ($\bar{n}$ = 4,5) dans le second. On peut croire que l'interaction z — z' entre le codon et l'anticodon est d'autant moins importante que n est plus élevé, car la liaison xy — $x'y'$ est assez résistante.

La dégénérescence suivant z dans le premier octet est liée à ce qu'on appelle « frétillements » (wobbles) de l'interaction z—z' (Crick). A la différence de xy—$x'y'$, cette interaction n'est pas univoque, comme en témoigne le tableau 8.4.

Tableau 8.4

Formation de paires par le troisième nucléotide de l'anticodon

z'	A	U	G	C	I
z	A	A, G	C, U	G	A, C, U

I — Inosine (nucléotide mineur).

La structure primaire d'une protéine est codée génétiquement, alors que la structure spatiale du globule est codée de façon biologiquement fonctionnelle. Les substitutions mutationnelles des nucléotides de la matrice ont des répercussions différentes sur la fonctionnalité de la protéine. Nous avons vu que l'hydrophobie d'un résidu acide aminé présente une grande importance pour la structure du globule (v. § 4.5). Par conséquent, les mutations provoquant des changements considérables de l'hydrophobie du résidu exerceront, sur les propriétés biologiques de la protéine, un effet plus fort que celui des mutations influençant peu l'hydrophobie. Les mutations du premier type présentent un plus grand danger pour l'existence de l'individu et de l'espèce que celles du second type. L'évolution, dont le code actuel est le résultat, aurait eu tendance à augmenter la *fiabilité* du code en réduisant la proportion des mutations les plus dangereuses. On peut s'assurer de la fiabilité du code en considérant des exemples concrets.

Le tableau 4.5 (p. 115) présente les hydrophobies des acides aminés. La différence moyenne de ces valeurs pour une substitution arbitraire d'un aminoacide par un autre s'élève à 5370 J/mol. A l'intérieur de chacune de deux classes conventionnelles: acides aminés hydrophobes (les 10 premiers) et acides aminés hydrophiles (les 10 suivants) les différences moyennes valent respectivement 3370 et 1640 J/mol.

La classe d'un aminoacide est avant tout déterminée par le deuxième nucléotide y du codon xyz. Lorsque $y = U$, le résidu est toujours hydrophobe (Ile, Met, Leu, Val, Phe). Nous appellerons « correctes » les mutations qui ne changent pas la classe du résidu et « incorrectes » celles qui le font passer dans l'autre classe. Les secondes sont plus dangereuses pour la structure de la protéine. En substituant un des nucléotides du codon xyz, on obtient la distribution suivante des mutations correctes et incorrectes:

Remplacement de	x	y	z
	120 correctes	74 correctes	156 correctes
	54 incorrectes	102 incorrectes	20 incorrectes

Il y a en tout 350 (66,5 %) substitutions correctes et 176 (33,5 %) substitutions incorrectes. Parmi les premières figurent aussi les « *mutations silencieuses* »: les cas où la substitution du nucléotide ne s'accompagne pas de celle du résidu par suite de la dégénérescence du code. Le code est conçu de façon à rendre une mutation correcte deux fois plus probable qu'une mutation incorrecte.

Calculons les différences moyennes des hydrophobies des résidus correspondant aux substitutions d'un seul nucléotide. On

4200 J/mol pour le remplacement de x,

5370 J/mol pour le remplacement de y,

1420 J/mol pour le remplacement de z,

la moyenne étant égale à 3660 J/mol, ce qui est de loin inférieur à la valeur de 5370 J/mol relative aux substitutions accidentelles des acides aminés. Expérimentalement, la différence moyenne d'hydrophobies entre l'aminoacide initial et l'aminoacide de substitution vaut 3500 J/mol pour 70 mutants de l'hémoglobine de l'homme, 3780 J/mol pour 6 cytochromes c et ainsi de suite. L'analyse de 423 substitutions observées dans 6 protéines homologues de différentes espèces (cytochrome c, hémoglobines α et β, insulines A et B) fournit la différence moyenne d'hydrophobies égale à 3240 J/mol.

Ainsi, le code présente une fiabilité élevée (bien qu'elle ne soit pas absolue) vis-à-vis des mutations correctes, en assurant leur probabilité plus grande. Les mutations correctes sont favorisées par la structure spatiale des protéines dans le milieu aqueux et, donc, par les propriétés physiques particulières de l'eau. La corrélation entre codons et aminoacides se trouve être dictée par la physique de l'eau.

§ 8.7. Mutations

Les mutations se produisent soit de façon spontanée, soit sous l'effet de facteurs extérieurs puissants: action chimique ou radiative sur les chromosomes et les gènes. Il faut savoir distinguer les

mutations chromosomiques (réorganisations des chromosomes observables à l'aide d'un microscope) des *mutations ponctuelles* (géniques). Les premières sont des modifications des structures supramoléculaires, les secondes correspondent à des variations de l'ordre des nucléotides dans les ADN et, par conséquent, dans les ARNm. Nous considérons ici les mutations ponctuelles.

Il en existe quatre types.

a) Mutations qui consistent à substituer des nucléotides dans les codons et qui modifient le sens du codon, i.e. un résidu acide aminé codé dans la protéine (*mutations faux sens*).

b) Mêmes substitutions qui transforment le codon en un codon dégénéré compatible avec le premier. Ces mutations « silencieuses » (*silent mutations*) qui ne changent pas le résidu acide aminé dans la protéine, ne se manifestent pas au niveau du phénotype, mais présentent un intérêt bien considérable du point de vue de l'évolution (v. plus bas, § 17.9).

c) Mutations qui font d'un codon normal un codon *terminal* UAA, UAG ou UGA (*mutations non sens*). Ces mutations, conduisant à la rupture de chaîne protéique, sont les plus dangereuses.

d) Délétions de nucléotides ou leurs insertions, i.e. les mutations entraînant un changement de phase dans la lecture (*frame shift mutations*, v. p. 276).

Les mutations ponctuelles spontanées résultent des erreurs commises lors de la réplication d'ADN, erreurs dues à l'agitation thermique des atomes et des molécules. Il va de soi que les erreurs de transcription et de traduction ne sont pas héritées.

L'insertion d'un nucléotide non complémentaire du nucléotide matriciel, la délétion ou le remplacement d'un nucléotide ont normalement pour résultat la formation d'une boucle dans la double hélice d'ADN (v. p. 243). Cette boucle disparaît au cours des réplications ultérieures de l'ADN par suite de la synthèse semi-conservative, mais la structure primaire de l'ADN demeure modifiée. A côté de la formation de boucles on peut voir apparaître une paire autre que celles de Watson et Crick par suite de l'aptitude de la base azotée à créer des liaisons hydrogène insolites (p. 245) ou bien à cause de la tautomérie (p. 36).

Il est évident que le remplacement d'une paire AT par une paire GC est thermodynamiquement avantageux, car G est lié à C plus solidement que A à T. Si tout n'était conditionné que par la thermodynamique, l'évolution conduirait à une plus forte proportion de GC dans les ADN. Cela ne se produit pas : chez les organismes supérieurs la teneur en GC est stabilisée au niveau de 40 à 45 %. L'apparition, au cours de l'évolution, d'un « organisme G + C » est biologiquement absurde, car les triplets ne contenant pas A et T (A et U dans les ARNm) ne codent que pour Pro, Arg, Ala et Gly, i.e. pour $^1/_5$ seulement de tous les résidus acides aminés.

Diverses mutations ponctuelles ont des probabilités différentes. Vogel et Kopun (1977) ont analysé 1293 substitutions de résidus acides aminés dans les protéines présentant une liaison phylogénétique, substitutions expliquées par les substitutions uniques des nucléotides xy dans les codons xyz. Les substitutions de z ne sont pas considérées, car sur $61 \cdot 3 = 183$ substitutions dans les codons normaux sept conduisent à des codons terminaux et 126 sont des mutations silencieuses. On a ainsi trouvé les nombres n_i des substitutions $x \rightarrow x'$ et $y \rightarrow y'$ dans les codons des ARN (tableau 8.5).

Tableau 8.5

Nombres n_i de substitutions mutationnelles $x \rightarrow x'$ et $y \rightarrow y'$ dans les codons des ARN pour quelques protéines phylogénétiquement liées

x, y \ x', y'	A	G	C	U
A	—	237	114	60
G	272	—	92	71
C	96	73	—	92
U	54	63	69	—

Pour trouver les probabilités relatives de ces mutations, il faut tenir compte de certaines différences entre les nombres de substitutions de nucléotides m_i que l'on peut observer sous forme de substitutions de résidus acides aminés, en conformité avec le code. On obtient le tableau 8.6. Les probabilités relatives des substitutions

Tableau 8.6

Nombres m_i de substitutions $x \rightarrow x'$ et $y \rightarrow y'$ observables dans les codons

x, y \ x', y'	A	G	C	U
A	—	30	28	27
G	30	—	31	28
C	28	31	—	27
U	27	28	27	—

sont déduites suivant la formule

$$p_i = \frac{n_i}{\sum_i n_i} \frac{\sum_i m_i}{m_i}. \qquad (8.1)$$

En normalisant p_i pour l'unité, on a le tableau 8.7.

Les substitutions de nucléotides sont des *transitions* ou des *transversions.* On appelle transitions les substitutions d'une purine par une purine et d'une pyrimidine par une pyrimidine : A ⇄ G, C ⇄ U ;

Tableau 8.7

Probabilités relatives normalisées des substitutions $x \to x'$, $y \to y'$ dans les codons des ARN d'après des données relatives aux protéines

x', y' / x, y	A	G	C	U
A	—	0,177	0,091	0,050
G	0,201	—	0,067	0,057
C	0,076	0,053	—	0,076
U	0,045	0,051	0,057	—

les transversions sont les substitutions d'une purine par une pyrimidine et inversement : A ⇄ C, A ⇄ U, G ⇄ C, G ⇄ U. Si l'on se réfère au tableau 8.7, la probabilité des transitions $p = 0{,}68$ et celle des transversions $1 - p = 0{,}32$. Les données relatives à 198 mutants de l'hémoglobine de l'homme fournissent des valeurs quelque peu différentes : $p = 0{,}62$, $1 - p = 0{,}38$.

Ces données caractérisent deux choses : les probabilités vraies des substitutions de nucléotides dans les ADN et les ARN et la survie des protéines mutantes correspondantes. On a obtenu des données concernant directement les ARN et portant sur 247 substitutions. Les probabilités relatives normalisées correspondantes figurent dans le tableau 8.8. Les probabilités des transitions y demeurent plus élevées que celles des transversions, mais la différence est moins sensible : $p = 0{,}56$, $1 - p = 0{,}44$.

Il y a un écart considérable entre les probabilités de substitution déduites des structures primaires des protéines (tableau 8.7) et celles tirées directement des structures primaires des ARN (tableau 8.8). Dans le premier cas les probabilités des transitions A ⇄ G sont de loin supérieures aux probabilités des transversions et des transitions C ⇄ U, alors que dans le second cas cela n'est plus observé. Les

Tableau 8.8

Probabilités relatives normalisées des substitutions dans les ARN

x, y \ x', y'	A	G	C	U
A	—	0,065	0,040	0,053
G	0,117	—	0,109	0,121
C	0,093	0,113	—	0,121
U	0,049	0,028	0,089	—

substitutions A $\rightleftarrows$ G fournissent donc une moindre proportion de létaux que les autres substitutions. Cela se comprend, car les résidus acides aminés liés par les transitions A $\rightleftarrows$ G, sont beaucoup plus proches les uns des autres que les résidus intervenant dans les autres transitions. En effet, les transitions A $\rightleftarrows$ G correspondent aux moindres variations de l'hydrophobie; ses variations correspondant aux transitions C $\rightleftarrows$ U sont deux fois plus importantes. On trouvera dans

Tableau 8.9

Différences moyennes d'hydrophobies entre les résidus acides aminés (en kJ/mol) pour les substitutions $x \to x'$, $y \to y'$ dans les codons de l'ARNm

x, y \ x', y'	A	G	C	U
A	—	2,94	4,97	5,10
G	2,94	—	4,35	6,24
C	4,97	4,35	—	5,69
U	5,10	6,24	5,68	—

le tableau 8.9 les variations moyennes des hydrophobies des résidus acides aminés lors des substitutions de nucléotides dans les ARNm.

Ainsi, les mutations A $\rightleftarrows$ G sont les moins dangereuses pour la structure et la fonction d'une protéine et le pourcentage correspondant des létaux doit être le moins élevé. Les probabilités vraies des substitutions sont caractérisées par le tableau 8.8. Elles sont en accord avec les calculs quanto-mécaniques des énergies d'interaction dans les différentes paires de bases azotées.

Nous avons considéré les mutations de la classe a (p. 300) conduisant au remplacement d'un résidu acide aminé. Penchons-nous sur les mutations de la classe b, celles qui provoquent la rupture de la chaîne protéique. Ces mutations, déterminées par la substitution d'un seul nucléotide dans les codons xyz, sont 23 au total : 9 substitutions dans x, 7 dans y et 7 dans z. Sur 23 mutations 18 sont des transversions et 5 seulement des transitions. La moindre probabilité des transversions réduit dans une certaine mesure la probabilité de la mutation terminale létale.

Les valeurs des probabilités des substitutions ponctuelles dans les codons, regroupées dans le tableau 8.8, donnent la possibilité de calculer les probabilités relatives des mutations terminales. Ces valeurs figurent dans le tableau 8.10.

Tableau 8.10

Probabilités relatives des mutations conduisant aux codons terminaux UAA, UAG, UGA

1.	U → A dans les codons U$\dot{\text{U}}$G, UG$\dot{\text{U}}$	0,049
2.	A → U dans les codons $\dot{\text{A}}$AA, $\dot{\text{A}}$AG, $\dot{\text{A}}$GA	0,053
3.	U → G + U → A dans les codons U$\ddot{\text{U}}$A, UA$\ddot{\text{U}}$	0,077
4.	C → A dans les codons U$\dot{\text{C}}$G, UG$\dot{\text{C}}$	0,093
5.	G → U dans les codons $\dot{\text{G}}$AA, $\dot{\text{G}}$AG, $\dot{\text{G}}$GA	0,121
6.	C → U dans les codons $\dot{\text{C}}$AA, $\dot{\text{C}}$AG, $\dot{\text{C}}$GA	0,121
7.	C → G + C → A dans les codons U$\ddot{\text{C}}$A, UA$\ddot{\text{C}}$	0,206
8.	Deux mutations G → A dans les codons U$\dot{\text{G}}\dot{\text{G}}$	0,234

Ainsi, sont les plus probables les mutations terminales dans le codon UGG, codant pour le Trp. Sur 9 mutations de ce codon 2 sont non sens, avec une probabilité élevée. C'est, probablement, la raison pour laquelle le gène codant pour l'ARNt^{Trp} présente fréquemment des mutations qui rendent cet ARNt suppresseur. La conservation du codon UGG a donc la plus grande importance.

En ce qui concerne les mutations « silencieuses » de la classe b, leur intérêt pour l'évolution ne réside pas dans le remplacement de résidus acides aminés, mais dans le fait que les codons codégénérés peuvent présenter des mutations différentes. Pour ne citer qu'un exemple, la mutation UUG (Leu) → UUA (Leu) laisse intact le résidu. Mais la probabilité de la mutation non sens UUA vaut 0,077 et celle de la mutation non sens UUG 0,049 (tableau 8.9). Voir également le § 17.9.

§ 8.8. Régulation des gènes

Le fonctionnement des gènes (la biosynthèse des protéines) est soumis à une régulation fine dans les systèmes vivants. En sont responsables, au niveau moléculaire, les phénomènes de reconnaissance moléculaire réalisés au moyen d'interactions faibles. Au bout du compte, ce sont les interactions moléculaires responsables des rétroactions indispensables pour les processus de régulation qui déterminent toute la voie du développement biologique de la cellule. Nous avons déjà eu affaire aux rétroactions au niveau moléculaire: c'est le phénomène d'allostérie (p. 218).

La synthèse des protéines est perturbée par l'action des facteurs mutagènes sur l'ADN. Des corps non mutagènes peuvent aussi, parfois, avoir un effet sensible sur le fonctionnement des gènes. Le phénomène de *synthèse induite d'enzymes* a été découvert chez les procaryotes. Les cellules d'*E. coli* du type sauvage, cultivées sur un milieu à source de carbone non galactosidique, ne synthétisent presque pas l'enzyme *β-galactosidase* qui catalyse l'hydrolyse du galactoside lactose. L'addition d'une substance induisant la synthèse, par exemple, du méthylthiogalactoside à la culture d'*E. coli* du type sauvage en train de croître augmente la vitesse de la synthèse de la galactosidase de 10^3 fois. Le type sauvage d'*E. coli* est ce qu'on appelle *type inductible*. Parallèlement, il existe des souches mutantes d'*E. coli* qui synthétisent la β-galactosidase en l'absence d'un inducteur. Ces mutants sont dites *constitutifs*. L'inducteur agit sur le système génétique de la cellule. Jacob et Monod (1961) ont effectué l'analyse génétique de la synthèse induite en partant d'une simple hypothèse qui a obtenu, par la suite, des confirmations de valeur. La synthèse induite est inhibée par une substance spécifique dite *répresseur* qui se trouve dans le cytoplasme. Le répresseur est synthétisé par un *gène régulateur* approprié. Plus tard on a pu montrer que les répresseurs étaient des protéines. Le répresseur agit sur le *gène opérateur* qui dirige le transfert d'information de plusieurs gènes de structure vers les protéines synthétisées. L'action du répresseur arrête le fonctionnement de tout l'ensemble de ces gènes dit *opéron*.

L'inducteur de synthèse agit sur la protéine-répresseur en supprimant son effet sur le gène opérateur.

La figure 8.13 présente schématiquement le système génétique que nous venons de décrire. Dans l'exemple considéré le répresseur contrôle la synthèse d'au moins deux enzymes: de la β-galactosidase et de la β-galactoside-perméase. Le second enzyme détermine la vitesse du passage des β-galactosides dans les cellules bactériennes à travers les membranes. La synthèse de deux enzymes est corrélée de façon appropriée.

Le modèle d'opéron a trouvé sa pleine confirmation dans les études génétiques qui ont prouvé l'existence du gène régulateur, du

20—01676

gène opérateur et de leurs mutations. La synthèse de la β-galactosidase dans *E. coli* est contrôlée par le *Lac opéron* soumis à l'effet du *Lac répresseur* qui est une protéine tétramère de masse moléculaire 150 000.

On connaît des systèmes où un seul répresseur spécifique agit sur plusieurs opérons différents.

Dans la régulation de l'opéron, ainsi que dans les processus de réplication d'ADN et de transcription, catalysés par les polymérases correspondantes, on rencontre les phénomènes de reconnaissance

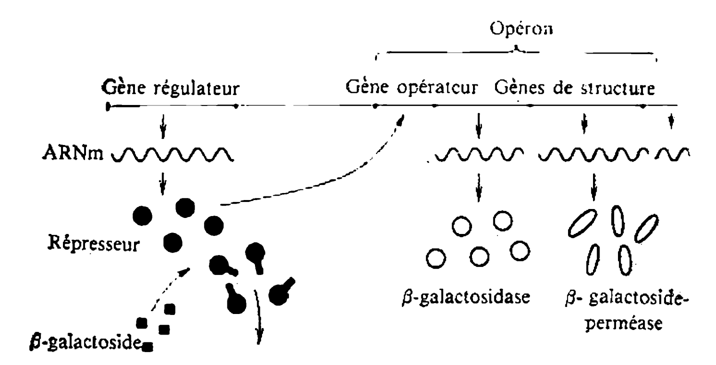


Fig. 8.13. Schéma d'un opéron

protéines-acides nucléiques ayant une valeur fondamentale pour la biologie et la biophysique. On voit se réaliser un « *hypercycle* » (Eigen, v. § 17.4) : l'ADN et l'ARNm sont responsables de la synthèse de la protéine qui détermine, à son tour, le fonctionnement de l'acide nucléique.

Gurski, Gottikh et col. ont proposé un code de reconnaissance protéines-acides nucléiques définissant la régulation de la transcription (1976). Selon leur hypothèse, chaque portion de la protéine de régulation est composée de deux segments antiparallèles de la chaîne polypeptidique qui forment une structure β. La reconnaissance serait fondée sur la complémentarité de cette structure et sur la séquence des paires nucléotidiques de l'ADN. Une caractéristique importante de cette séquence est la distribution asymétrique des guanines entre deux brins de l'ADN. Le code proposé comporte six résidus acides aminés : Ser, Thr, Asp, His, Gln, Cys ; l'ordre de leur disposition dans la portion stéréospécifique de la protéine déterminerait la séquence des paires de bases de l'ADN auquel cette protéine est liée de préférence. Le code, élaboré en partant de considérations stéréochimiques, a été confirmé par l'interaction entre le Lac répresseur et le Lac opéron, ainsi que par d'autres exemples.

Le contrôle de l'opéron par le gène opérateur résulterait du fait

que la synthèse de l'ARNm débute par l'extrémité de l'opéron adjacente au gène opérateur.

Ce mode de contrôle et de régulation de la synthèse protéique chez les procaryotes ne peut encore couvrir tous les besoins régulatoires de la cellule. Les protéines codées par un même opéron peuvent être nécessaires en quantités différentes et en temps différent. Pour comprendre les phénomènes de régulation correspondants, il faut examiner en détail le processus de transcription. Il est rationnel de considérer le début de la synthèse de l'ARN sur l'ADN (initiation) et la poursuite de cette synthèse (élongation) comme deux étapes indépendantes.

La synthèse d'ARN sur ADN est inhibée par une série d'antibiotiques tels que l'actinomycine qui bloquent la matrice d'ADN. Les antibiotiques du type rifamycine agissent, par contre, sur l'ARN-polymérase. La rifamycine est active au stade d'initiation en empêchant la formation de la première liaison internucléotidique. D'autres substances ayant un effet sur la polymérase, inhibent l'élongation.

La régulation de la transcription ne suit pas toujours le schéma de Jacob et Monod (intervention d'un facteur répresseur négatif de régulation). Dans les ADN des phages la lecture de gènes déterminés n'a pas lieu même en l'absence de répresseurs. L'intervention de facteurs de régulation positifs s'impose pour faire fonctionner ces gènes.

Lorsqu'on contamine les cellules d'*E. coli* avec des phages T paires, on voit se réaliser une séquence temporelle bien réglée de processus de transcription. Quelques minutes après la contagion la synthèse des ARNm et des protéines de la cellule-hôte est interrompue et quelques nouveaux enzymes sont synthétisés, nécessaires pour la synthèse de l'ADN du phage, après quoi il y a synthèse des protéines structurales du phage. Les ARNm spécifiques du phage n'apparaissent pas tout de suite, mais de façon progressive (Khessine et col., 1962, 1963). Les premières et les dernières étapes du développement des phages T2 et T4 dans la cellule d'*E. coli* s'accompagnent de la formation d'ensembles différents d'ARNm, synthétisés sur des groupes de gènes différents. L'apparition de ces divers groupes d'ARNm est fonction des processus de synthèse protéique et de réplication de l'ADN de phage. Les modèles proposés pour expliquer ces phénomènes prévoient une structure complexe (en plusieurs sous-unités) de l'ARN-polymérase, structure qui varierait sous l'effet de facteurs protéiques de régulation. Les mécanismes moléculaires précis de la régulation temporelle de la synthèse des protéines ne sont encore pas connus.

Cette régulation aurait lieu à toutes les étapes de la synthèse des protéines. Elle s'étend aux polymérases, aux aminoacyl-ARNt-synthétases et aux ribosomes. On sait que les antibiotiques influent

sur la traduction du code en agissant sur les ribosomes. La streptomycine qui perturbe également la traduction dans un extrait acellulaire, s'insère dans les sous-unités 30 S des ribosomes.

L'acide adénosinemonophosphorique cyclique (AMPc, v. p. 42) stimule le fonctionnement des gènes au niveau de la transcription en servant de trigger chimique de la transcription. La transcription commence, lorsque le complexe AMPc-protéine-récepteur active une certaine région de promotion de l'ADN au début de l'opéron. L'ARN-polymérase se fixe sur la zone de promotion activée, se déplaçant ensuite le long de la chaîne d'ADN pour organiser la synthèse de l'ARNm. Le complexe AMPc-récepteur n'intervient pas dans la transcription en présence d'un répresseur protéique spécifique. L'AMPc peut stimuler la transcription de plusieurs opérons différents.

La régulation du fonctionnement des gènes dans les cellules d'*eucaryotes* est, naturellement, beaucoup plus complexe. Les gènes des eucaryotes se trouvent dans les *chromosomes*: structures supramoléculaires qui sont des *nucléoprotéides*, complexes organisés ADN-protéine.

Toutes les cellules somatiques d'un organisme pluricellulaire donné comportent un même jeu de gènes identique au génome du zygote de départ. (Nous faisons abstraction des mutations somatiques.) En même temps, les cellules des différents tissus présentent des distinctions morphologiques et fonctionnelles. Les différences entre ces cellules résident dans le fait que les protéines qui fonctionnent dans les diverses cellules d'un organisme, ne sont pas les mêmes. Cela veut dire que dans des cellules différentes fonctionnent des gènes différents; le sens moléculaire de la *différenciation des cellules* consiste donc dans la régulation du fonctionnement des gènes. Dans une cellule d'une variété donnée la traduction ne s'effectue que pour une petite fraction des gènes qui y sont présents.

Les protéines entrant dans la composition de la chromatine et des chromosomes sont soit des *histones*, soit des *protéines non histoniques* (PNH). Les histones, protéines basiques riches en Arg et en Lys, sont représentées par cinq fractions: H1, H2A, H2B, H3 et H4. On a établi les structures primaires de certaines histones provenant de divers organismes. Cette structure demeure extrêmement stable au cours de l'évolution pour presque toutes les fractions. Ainsi, les histones H2 du pois et du thymus de veau ne diffèrent l'une de l'autre que par deux résidus acides aminés sur cent deux. Cette grande stabilité de la structure primaire des histones s'expliquerait par le fait que la molécule entière d'histone est fonctionnelle: certaines de ses parties sont responsables de la liaison avec l'ADN au moyen des ponts salins Arg, Lys-phosphate, d'autres des interactions entre protéines. La *chromatine* est constituée de *nucléosomes* compactement assemblés qui sont des fragments d'un diamètre de 10 nm résul-

tant de la dégradation de la chromatine sous l'action des *nucléases*. Il existe trois variétés de mononucléosomes : MN1 qui renferme 145 paires de bases d'ADN et deux molécules de chacune des fractions d'histones, à l'exception de H1 ; MN2 qui comporte 160 à 170 paires de bases, les mêmes 8 molécules d'histones que MN1 et encore une molécule de H1 ; enfin, MN3 où l'on trouve 200 paires de bases et les mêmes 9 molécules d'histones que dans MN2. Selon Crick et Klug, l'ADN nucléosomal s'enroulerait autour de la protéine en une superhélice qui ne résulterait pas d'une flexion régulière de la double hélice, mais de ses cassures brusques toutes les 20 paires de bases environ (1975). C'est la neutralisation des charges négatives des groupes phosphate par les charges positives des histones qui provoquerait cet enroulement de l'ADN en superhélice. La présence de 8 ou 9 histones différentes dans les nucléosomes leur assure une grande diversité structurale. Tsanev et Sendov ont émis l'hypothèse de l'existence d'un code spécifique appelé à bloquer les gènes, en considérant que le codage était déterminé par les diverses combinaisons de cinq histones (1966).

Les conformations des histones et des PNH, ainsi que de leurs complexes avec les ADN, changent au cours du développement de la cellule ; le génome subit alors des changements fonctionnels devenant plus ou moins accessible à l'action des protéines de régulation du cytoplasme. Les chromosomes géants des insectes diptères présentent, à un certain stade du développement, des *puffs* : renflements qui sont les sièges d'intense synthèse d'ARN. Dans ces sites les histones subissent des changements chimiques et conformationnels, ce qui assure la modification de la fonctionnalité des gènes correspondants. Il paraît que dans les puffs les histones seraient moins solidement liées à l'ADN, plus accessibles à l'action des protéases et plus facilement détachables. Voilà pourquoi les histones n'entraveraient pas, à l'intérieur des puffs, le fonctionnement de l'ARN-polymérase, alors que dans les conditions normales elles empêchent la transcription.

Géorgiev a étudié le mécanisme d'inhibition de la synthèse d'ARN par les histones à l'aide de la technique de double marque radioactive. L'ATP ou le GTP, marqués au ^{32}P-phosphate, étaient utilisés pour déterminer l'initiation de la chaîne d'ARN et le ^{14}C-UTP pour déterminer la vitesse générale de sa croissance. L'addition d'histones faisait décroître le rapport ^{14}C/^{32}P dans l'ARN issu de la synthèse. Cela peut être dû soit à un ralentissement de la croissance de la chaîne, soit à la formation de chaînes relativement courtes, les histones empêchant le déplacement de la polymérase le long de la matrice. L'activité matricielle de la chromatine est inférieure d'un ordre de grandeur à celle de l'ADN libre. Si on en élimine les histones, l'activité matricielle de la chromatine augmente.

Les protéines non histoniques renferment des résidus non pas

basiques, mais acides. Les PNH sont très hétérogènes. Leurs masses moléculaires varient entre 10 000 et 150 000. Elles sont très diverses du point de vue fonctionnel. Les propriétés et la structure des PNH sont encore mal connues, mais leur participation à la régulation des gènes n'éveille aucun doute. L'aptitude des PNH à stimuler la synthèse des ARN dans un système acellulaire dépend de leur état de phosphorylation. Une hypothèse a été formulée, selon laquelle le gène serait mis en action par la fixation d'une PNH sur le site spécifique de l'ADN, soumis à la répression d'une histone. Les PNH se phosphoryleraient en acquérant des charges négatives. L'ADN

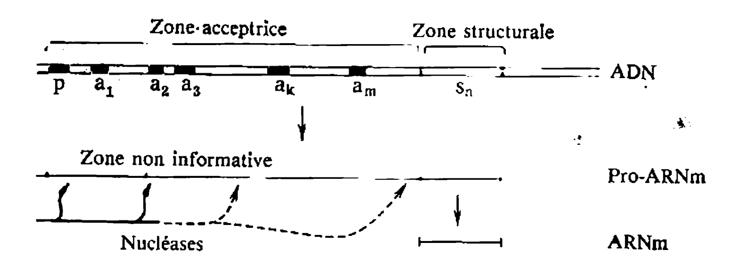


Fig. 8.14. Schéma d'un transcripton:
p — promoteur, $a_1, \ldots, a_m$ — sites accepteurs, s_n — gènes de structure

ayant également une charge négative, elles le quitteraient en emportant les histones à charge positive et en laissant derrière elles une zone libre de l'ADN, apte à la transcription.

Les génomes des eucaryotes sont très complexes. Ils renferment des gènes répétés et des gènes retournés (*palindromes*). Les portions génétiquement fonctionnelles de l'ADN alternent avec des zones non fonctionnelles (*spacers*). Il existe des spacers susceptibles de transcription et d'autres qui ne le sont pas. Selon un résultat récent, même à l'intérieur des gènes (portions fonctionnelles de l'ADN) il y a des portions non fonctionnelles qui les interrompent et qu'on appelle dans ce cas *introns*. Selon Géorgiev et col., les eucaryotes possèdent des ensembles de gènes formant des systèmes achevés de régulation, les *transcriptons* (fig. 8.14). Leur transcription conduit au *pro*-ARNm, dont une petite fraction seulement est de l'ARNm vrai responsable de la synthèse des protéines. La plus grande partie du *pro*-ARNm est non informationnelle et se décompose sous l'action des nucléases. La destruction de cette partie du *pro*-ARNm et la séparation de l'ARNm vrai, schématisées sur la figure 8.14, sont appelées *processing*.

Ainsi, le transcripton est constitué par une zone très grande et génétiquement non fonctionnelle de l'ADN (que l'on peut appeler zone acceptrice) et par une petite zone structurale. C'est la zone acceptrice qui comporte les portions qui entrent en interaction avec les pro-

téines de régulation. En tête du transcripton qui est beaucoup plus volumineux que l'opéron des bactéries on trouve une région promotrice sur laquelle se fixe l'ARN-polymérase. Le déplacement de la polymérase le long du transcripton, la transcription, est réglé par l'interaction des protéines de régulation avec les zones acceptrices.

Le modèle de transcripton assure, en comparaison des procaryotes, une régulation plus fine des gènes, leur blocage et leur activation. L'interaction des PNH et des histones avec les zones acceptrices influe sur la structure de la chromatine et des chromosomes en déterminant l'assemblage de l'ADN, dont dépendent les possibilités de transcripton. Chaque transcripton possède plusieurs zones acceptrices différentes qui reconnaissent diverses protéines de régulation. D'autre part, des transcriptons différents peuvent reconnaître une même protéine. Corrélativement, l'addition ou le détachement d'une protéine peut mettre en action ou désactiver tout un ensemble de transcriptons.

La grande taille de la zone acceptrice de l'ADN se révèle nécessaire justement pour pouvoir effectuer une régulation fine et variée, sans laquelle un organisme pluricellulaire différencié ne pourrait exister. D'après le modèle de transcripton, l'ARNm se trouverait au bout d'un *pro*-ARNm géant. Comme il existe des zones acceptrices identiques chez les différents transcriptons, la partie antérieure des *pro*-ARNm devrait comporter des séquences identiques pour les différents *pro*-ARNm. L'expérience le confirme.

Orgel et Crick (1980) ont formulé l'hypothèse de l'ADN « *égoïste* » (selfish). Une part importante des ADN dans les cellules des organismes supérieurs n'est pas fonctionnelle : elle n'a aucun effet sur le phénotype. On peut croire que l'ADN « égoïste » est répliqué de façon indépendante, en se comportant, dans ce sens, comme un parasite pas trop nuisible. Toutefois, la présence d'une quantité excédentaire d'un tel ADN peut réduire la vitesse de la méiose. Les dimensions du génome posent une limite, au-delà de laquelle le développement ne peut plus être accéléré.

Les problèmes de la régulation génique chez les eucaryotes ne font que devenir objet de la biophysique. Les systèmes nucléoprotéidiques complexes de la chromatine et des chromosomes sont encore trop mal connus, pour qu'on puisse donner une formulation nette à beaucoup de problèmes physiques. En même temps, on voit se développer avec succès la simulation physico-mathématique des processus de régulation du développement (v. chap. 17).

CHAPITRE 9

THERMODYNAMIQUE DU NON-ÉQUILIBRE EN BIOLOGIE

§ 9.1. Information et entropie

Jusqu'à présent, en examinant la structure et les propriétés des biopolymères, nous nous sommes limités, dans la plupart des cas, à considérer les états d'équilibre. Tant qu'il s'agit d'une structure achevée, la chose est légitime. Mais la formation de la structure (biosynthèse et auto-assemblage) est un ensemble de processus non équilibrés qui se déroulent de façon irréversible. Cela est d'autant plus vrai pour ce qui concerne le fonctionnement du système biologique pris en entier, les processus de développement évolutif et individuel.

Comme nous l'avons vu, l'organisme est une sorte de machine chimique qui fonctionne grâce aux interactions moléculaires directes et inverses. La signalisation moléculaire sert à transmettre des messages. Par conséquent, le traitement physique général des systèmes biologiques est fondé sur la théorie de l'information, indissolublement liée à la thermodynamique.

La *théorie de l'information* introduit une mesure de la *quantité d'information*. Admettons qu'il y a P_0 divers événements équiprobables. Ainsi, en jetant une pièce de monnaie, $P_0 = 2$; pour un dé, $P_0 = 6$. Plus P_0 est grand, plus l'incertitude est grande, tant qu'on n'a pas reçu le renseignement sur l'événement, et plus la quantité d'information (qu'on appellera par la suite information tout court) est importante, dès que le message est parvenu. Initialement, avant d'avoir jeté la pièce ou le dé, l'information est nulle ($I_0 = 0$), alors que dans la situation finale $I_1 \neq 0$. Il est évident que la mesure de l'information doit être liée à P_0. Il est naturel d'exiger que l'information soit additive pour les événements indépendants (lorsqu'on jette deux dés, par exemple).

Ainsi, en présence de deux ensembles d'événements P_{01} et P_{02}, tels que le nombre total d'événements

$$P_0 = P_{01}P_{02} \tag{9.1}$$

(pour deux dés $36 = 6 \cdot 6$), on doit avoir

$$I\,(P_{01}P_{02}) = I\,(P_{01}) + I\,(P_{02}). \tag{9.2}$$

Il existe une seule solution satisfaisant à cette relation :

$$I = K \ln P_0, \tag{9.3}$$

la constante K étant arbitraire. L'est donc également la base du logarithme. Usuellement on se sert du système binaire avec la base 2. Si l'on forme tous les « mots » ou séquences de deux nombres 0 et 1 de longueur n, on aura $P = 2^n$ possibilités. Imposons que

$$I \equiv K \ln P = Kn \ln 2 = n, \tag{9.4}$$

soit

$$K = 1/\ln 2 = \log_2 e \tag{9.5}$$

et

$$I = \log_2 P. \tag{9.6}$$

L'information y est comptée en *bits*. Ainsi, lorsque $P_0 = 2$, $P_1 = 1$ (le cas de la pièce de monnaie),

$$I = \log_2 P_0 - \log_2 P_1 = 1 - 0 = 1 \text{ bit}.$$

Combien de bits comporte un nombre arbitraire de trois chiffres? Le premier chiffre peut avoir 9 valeurs différentes de 1 à 9, le deuxième et le troisième 10 valeurs entre 0 et 9. On a

$$I = \log_2 9 + 2 \log_2 10 = 9{,}28 \text{ bits}.$$

Cette définition de l'information correspond au système binaire, où tout nombre s'écrit sous forme de puissances du nombre 2 à l'aide des chiffres 0 et 1. Une unité décimale fournit 3,32 bits, ce qui veut dire que la notation binaire exige en moyenne 3,32 fois plus de chiffres que la décimale.

Soit un message comportant N cellules successives: un texte de N lettres. Chacune de N cellules peut contenir une de M lettres ($M = 26$ pour le français). Le message renferme N_1 lettres A, N_2 lettres B, etc. Il vient

$$N = \sum_{j=1}^{M} N_j. \tag{9.7}$$

La probabilité d'apparition d'une lettre donnée

$$p_j = N_j/N, \; j = 1, 2, \ldots M, \tag{9.8}$$

alors que

$$\sum_{j=1}^{M} p_j = 1. \tag{9.9}$$

Le nombre total des différentes séquences de N lettres d'un langage à M lettres, i.e. le nombre des différents messages possibles, s'écrit

$$P = \frac{N!}{\prod_{j=1}^{M} N_j!}. \tag{9.10}$$

Pour exprimer l'information contenue dans un message, nous nous servirons de la formule de Stirling qui donne de bons résultats, lorsque $N_j > 100$:

$$I = K \ln P = K \left[\ln (N!) - \sum_{j=1}^{M} \ln (N_j!)\right] \approx$$

$$\approx K\left(N \ln N - \sum_{j=1}^{M} N_j \ln N_j\right), \qquad (9.11)$$

soit

$$I = -KN \sum_{j=1}^{M} p_j \ln p_j, \qquad (9.12)$$

l'information rapportée à une lettre s'écrivant

$$i = I/N = -K \sum_{j=1}^{M} p_j \ln p_j. \qquad (9.13)$$

Nous avons obtenu la *formule de Shannon*, une expression plus générale pour l'information qui correspond à une suite d'événements ayant des probabilités p_j différentes. Dans ce cas l'information est exprimée en bits, lorsque $K = 1/\ln 2$, et en J/K (unités d'entropie), lorsque $K = k = 1{,}38 \cdot 10^{-23}$ J/K (constante de Boltzmann). Donnons à la quantité

$$S = -k \sum_{j} p_j \ln p_j \qquad (9.14)$$

le nom d'*entropie*. Nous verrons par la suite qu'il s'y agit réellement de l'entropie physique.

Démontrons qu'une variation de l'incertitude conduit à un gain d'information. Passons de la distribution de probabilité $P = (p_1, p_2, \ldots, p_M)$ à la distribution $Q = (q_1, q_2, \ldots, q_M)$. De quelle façon l'information change-t-elle dans ce cas? Lorsque la probabilité d'un événement varie de p à 1, la variation d'information est

$$\Delta I = k \ln \frac{1}{p} = -k \ln p\,,$$

et lorsque $p \to q$,

$$\Delta I = k \ln \frac{q}{p}. \qquad (9.15)$$

Lors de la variation de toute la distribution de probabilité $P \to Q$ le changement d'information est égal à la somme des changements partiels ΔI multipliés par les probabilités finales q_j:

$$\Delta I = k \sum_{j} q_j \ln \frac{q_j}{p_j}. \qquad (9.16)$$

Cette quantité est toujours positive. Elle n'est nulle que lorsque $Q = P$. Démontrons-le. Pour tous les x, sauf $x = 1$,

$$\ln x > 1 - 1/x.$$

Par conséquent,

$$\sum q_j \ln \frac{q_j}{p_j} > \sum_j q_j \left(1 - \frac{p_j}{q_j}\right) = \sum_j q_j - \sum_j p_j = 0.$$

Ainsi, le fait d'être renseigné sur la transition $P \to Q$ diminue l'incertitude et fournit un gain positif d'information.

Soient p_j les probabilités de trouver le système dans les états d'énergie E_j. On a

$$E = \sum_j p_j E_j. \tag{9.17}$$

On cherche le maximum de la quantité S/k (9.14), tout en respectant les conditions (9.9) et (9.17). Utilisons la méthode des facteurs indéterminés de Lagrange. Après avoir multiplié (9.9) par $\alpha - 1$ et (9.17) par β, ajoutons ces expressions à (9.14) et faisons varier la somme obtenue. Si l'on pose la variation égale à zéro, il vient

$$\delta \left[\frac{1}{k} S - (\alpha - 1) \sum_j p_j - \beta \sum_j p_j E_j\right] = 0. \tag{9.18}$$

En dérivant par rapport à p_j et en égalant la dérivée à 0, on trouve

$$-\ln p_j - 1 - (\alpha - 1) - \beta E_j = 0,$$

d'où

$$p_j = \exp(-\alpha - \beta E_j). \tag{9.19}$$

En substituant (9.19) dans (9.14), on trouve l'entropie maximale

$$\frac{1}{k} S_{\max} = \alpha \sum p_j + \beta \sum p_j E_j = \alpha + \beta E. \tag{9.20}$$

D'autre part, comme il découle de (9.9) et (9.19),

$$1 = \sum_j p_j = e^{-\alpha} \sum_j e^{-\beta E_j} = e^{-\alpha} Z,$$

soit

$$e^{\alpha} = Z, \ \alpha = \ln Z. \tag{9.21}$$

On tire de (9.20)

$$E - \frac{1}{k\beta} S_{\max} = -\frac{1}{\beta} \ln Z. \tag{9.22}$$

Cette équation est bien connue en thermodynamique et en physique statistique. Ici

$$Z = \sum_j \exp(-\beta E_j) \tag{9.23}$$

est la *somme statistique*, S_{max} l'entropie d'équilibre, $\beta^{-1} = kT$, T la température absolue. L'expression (9.19) est la *fonction de distribution de Boltzmann*

$$p_j = \frac{\exp(-E_j/kT)}{\sum_j \exp(-E_j/kT)}. \tag{9.24}$$

L'énergie moyenne du système E et l'entropie d'équilibre S (nous omettons l'indice max) sont des fonctions du volume V. L'expression (9.22) fournit l'*énergie libre de Helmholtz*

$$E - TS = -kT \ln Z = F. \tag{9.25}$$

L'*énergie libre de Gibbs* s'écrit

$$G = F + pV = E + pV - TS = H - TS, \tag{9.26}$$

H étant l'enthalpie et p la pression.

Ainsi, l'entropie d'information (9.14) coïncide réellement avec l'entropie thermodynamique. Ce fait possède un sens physique réel: toute information obtenue est payable par un accroissement d'entropie. Tout changement est lié à l'accroissement de l'entropie du milieu. Si l'information et l'entropie sont mesurées à un même niveau de réception, la loi de la conservation

$$I + S = \text{const} \tag{9.27}$$

est vérifiée, à condition, bien sûr, que les deux quantités soient mesurées en mêmes unités. Cela veut dire que l'entropie mesure le manque d'information sur le système. S diminue, lorsque I augmente, et inversement. Les quantités I et S dans (9.27) ont un sens macroscopique. Ainsi, avec l'évaporation d'un liquide on voit disparaître l'information sur l'emplacement de ses molécules dans une partie déterminée de l'espace. L'entropie augmente en conséquence.

L'équivalence de l'information (en bits) et de l'entropie (en J/K) rappelle celle qui existe entre la masse et l'énergie suivant la loi d'Einstein

$$E = mc^2.$$

Dans notre cas 1 bit d'information est équivalent à $k \ln 2 = 10^{-23}$ J/K, ce qui est bien peu. L'information est très « bon marché » à l'échelle entropique. Toutefois, elle est payable. Evaluons le « coût » d'un bit d'information en unités de travail.

Soit un gaz parfait contenant N molécules sous la pression p et à la température T. Les fluctuations font que le volume du gaz diminue de V jusqu'à $V - \delta V$. Le travail nécessité par cette réduction est $W = p\delta V$. Calculons le gain d'information. La probabilité de trouver chaque molécule dans le volume V vaut 1 et celle de la trouver dans le volume $V - \delta V$ vaut $1 - \delta V/V$. Pour N molécules, la

probabilité est $(1 - \delta V/V)^N$. Le gain d'information

$$\Delta I = K \ln \frac{1}{(1-\delta V/V)^N} \approx KN \frac{\delta V}{V} \quad (\text{lorsque } N \gg 1).$$

Par conséquent,

$$\frac{W}{\Delta I} = \frac{p\delta V}{KN\delta V} V = \frac{pV}{KN} = \frac{kT}{K}.$$

Le travail dépensé par unité d'information est proportionnel à la température, à laquelle l'information est mesurée. Si ΔI est exprimé en bits, $K = 1/\ln 2$ et obtenir un bit d'information équivaut à dépenser une énergie égale à $kT \ln 2$, soit $2 \cdot 10^{-21}$ J, lorsque $T = 300$ K. C'est l'évaluation inférieure de la dépense d'énergie.

Il est possible d'estimer, d'une façon très approximative et conventionnelle, la quantité d'information que contient un organisme vivant. Selon Blumenfeld, la plus grande quantité d'information que l'on trouve dans l'organisme humain est déterminée par la disposition ordonnée des résidus acides aminés dans 7 kg de protéines ($3 \cdot 10^{25}$ résidus). Cela donne $1{,}3 \cdot 10^{26}$ bits. Toutes les autres contributions sont beaucoup moins importantes: ainsi, 150 g d'ADN de l'organisme humain fournissent $6 \cdot 10^{23}$ bits, la disposition ordonnée de 10^{13} cellules donne $4 \cdot 10^{14}$ bits et celle de 10^8 molécules de biopolymères dans la cellule seulement $2{,}6 \cdot 10^9$ bits. L'information protéique est très petite, si l'on la mesure en unités thermodynamiques: $1{,}3 \cdot 10^{26}\, k \ln 2 = 1{,}3 \cdot 10^3$ J/K ≈ 300 cal/K. Il est notoire que l'organisme vivant est bien peu ordonné du point de vue entropique, beaucoup moins qu'une roche de la même masse, déjà du fait que l'organisme contient des liquides.

Ici nous n'avons pas considéré les problèmes importants liés à la création de l'information nouvelle et à sa réception.

Notre raisonnement supposait que l'information était perçue par quelqu'un ou par quelque chose. Mais nous admettions implicitement que le récepteur n'était capable que de distinguer une lettre d'une autre. Cette hypothèse est nécessaire et suffisante pour pouvoir utiliser les concepts informationnels dans le cadre de la théorie des communications. La réception comme phénomène physique n'y est pas considérée.

Comme nous le verrons (§ 17.9), les applications biologiques de la théorie de l'information exigent qu'il y ait analyse des conséquences de la réception du message. La prise en compte de ces conséquences suppose l'étude de l'acte même de la réception en tant qu'un processus irréversible et déséquilibré de transition du système récepteur d'un état moins stable à un état plus stable. Il y a en même temps mémorisation d'information.

En ce qui concerne la création d'une nouvelle information, c'est, comme l'a démontré Quastler, la mémorisation d'un choix acciden-

tel. Un exemple simple nous aidera à illustrer cette idée. Vous laissez votre valise à la consigne automatique des bagages et choisissez un chiffre quelconque pour pouvoir la rouvrir. Vous retenez ou notez ce chiffre. Ainsi, vous avez créé une nouvelle information.

Une information nouvelle résulte de chaque acte de reproduction sexuée. Il s'agit là d'un choix accidentel, car aucune loi déterministe de la nature ne prévoit que c'est justement le couple donné qui produira sa descendance. Le nouvel individu est porteur d'une information nouvelle qui est une recombinaison des génomes parentaux.

Il n'existe encore aucune théorie de mémorisation d'information qui traiterait de sa réception et de sa création. En parlant de mémorisation, on ne peut plus poser l'information équivalente à l'entropie, car nous ne disposons pas encore d'aucune définition de l'entropie pour les systèmes éloignés de l'équilibre, pour les processus de mémorisation. Quant à un système en équilibre, il va de soi qu'il ne retient rien. La thermodynamique des systèmes éloignés de l'équilibre et possédant une mémoire à long terme est encore à créer.

Nous reparlerons de la théorie de l'information et de ses applications biologiques au § 17.9.

§ 9.2. Processus hors d'équilibre

L'exposé qui précède concernait les systèmes en équilibre, dont l'entropie est maximale. Les systèmes vivants ne sont pas équilibrés. Nous allons donc considérer les systèmes et les processus hors d'équilibre.

Soit un système constitué de deux sous-systèmes, tel un gaz, dont le volume est divisé en deux parties. Nous poserons que les distributions de probabilités p'_i et p''_i sont définies pour les deux sous-systèmes. Les entropies correspondantes s'écrivent

$$S' = -k\sum_i p'_i \ln p'_i, \quad S'' = -k\sum_i p''_i \ln p''_i. \tag{9.28}$$

On a toujours

$$\sum_i p'_i = 1, \quad \sum_i p''_i = 1 \tag{9.29}$$

et

$$E' = \sum_i p'_i E'_i, \quad E'' = \sum_i p''_i E''_i. \tag{9.30}$$

L'énergie totale est posée constante:

$$E' + E'' = E. \tag{9.31}$$

L'entropie est additive:

$$S' + S'' = S. \tag{9.32}$$

On a

$$\frac{\partial S}{\partial E'} = \frac{\partial S'}{\partial E'} + \frac{\partial S''}{\partial E'} = \frac{\partial S'}{\partial E'} + \frac{\partial S''}{\partial (E - E'')} = \frac{\partial S'}{\partial E'} - \frac{\partial S''}{\partial E''} \tag{9.33}$$

et, conformément à (9.20),

$$\frac{\partial S}{\partial E'} = k\,(\beta' - \beta'') = \frac{1}{T'} - \frac{1}{T''}. \tag{9.34}$$

Toutes les caractéristiques d'un système hors d'équilibre, l'entropie comprise, sont fonction du temps t. Lors du contact de deux sous-systèmes possédant, par exemple, deux températures différentes, on y observe le transfert d'une certaine quantité physique, telle l'énergie. A la suite de ce transfert la distribution de probabilités change. On a

$$S(t) = -k \sum_i p_i(t) \ln p_i(t). \tag{9.35}$$

Par conséquent, dans le cas présent (v. (9.34)),

$$\frac{dS}{dt} = \frac{\partial S}{\partial E'} \frac{dE'}{dt} = \left(\frac{1}{T'} - \frac{1}{T''}\right) \frac{dE'}{dt}. \tag{9.36}$$

La variation d'entropie dans le temps s'exprime en multipliant le *flux énergétique généralisé*

$$J = \frac{dE'}{dt} \tag{9.37}$$

par la *force généralisée* égale à

$$X = \frac{1}{T'} - \frac{1}{T''}. \tag{9.38}$$

Au cours de cette déduction nous avons supposé qu'en dehors de l'équilibre l'entropie était exprimée de la même façon qu'en équilibre, la formule (9.35) étant similaire à (9.14). Sans entrer dans le détail des questions physiques, disons que cette hypothèse est argumentée par le fait que les processus considérés sont voisins de l'équilibre. Le critère quantitatif de ce voisinage est donné plus bas (p. 325).

Lorsque le système est caractérisé par plusieurs variables extensives (telles que l'énergie), la variation de l'entropie en fonction du temps est la somme des produits des forces généralisées par les flux généralisés :

$$\frac{dS}{dt} = \sum_j X_j J_j. \tag{9.39}$$

Dans un système ouvert, la variation d'entropie se compose de la production d'entropie à l'intérieur du système d_iS et du flux entropique d_eS qui est soit le dégagement d'entropie vers le milieu, soit le processus inverse, quand l'entropie se dirige du milieu vers le système :

$$dS = d_iS + d_eS. \tag{9.40}$$

Suivant le second principe, $d_iS \geqslant 0$, le signe de d_eS n'étant pas déterminé (v. p. 16). Dans notre cas $d_eS = 0$ (le système entier est

fermé) et $dS = d_iS$: l'entropie résultant de l'échange de chaleur entre deux sous-systèmes conduira, tôt ou tard, à l'équilibre thermique. Dans le cas général l'expression (9.39) est ce qu'on appelle *fonction de dissipation* σ: vitesse de production d'entropie dans l'unité de volume. Toujours selon le second principe de la thermodynamique,

$$\frac{d_iS}{dt} = \int \sigma\, dV \geqslant 0 \tag{9.41}$$

et, conformément à (9.39),

$$\sigma = \sum_j J_j X_j. \tag{9.42}$$

Ici les flux et les forces sont rapportés à l'unité de volume.

Quels sont donc les forces et les flux généralisés auxquels on a affaire dans le cas des systèmes biologiques ouverts: cellules et organismes? Nous considérons ces systèmes comme chimiques, soumis à une température constante. On y observe des réactions chimiques et un transport de la matière. Pour une réaction chimique le rôle de flux est joué par la vitesse de réaction v, i.e. la dérivée de la *coordonnée réactionnelle* ξ par rapport au temps:

$$J_{\text{chim}} = v = \frac{d\xi}{dt}. \tag{9.43}$$

La coordonnée ξ exprime le degré d'avancement de la réaction:

$$\xi(t) = \xi(0) + \int_0^t v\, dt = \xi(0) + \int_0^t \frac{dn_\gamma}{\nu_\gamma}, \tag{9.44}$$

où n_γ est le nombre de moles du réactif γ et ν_γ le coefficient stœchiométrique de ce réactif dans la réaction. Le déroulement de la réaction chimique est déterminé par la différence des potentiels chimiques des réactifs et des produits de la réaction, de même que le flux d'énergie thermique est déterminé par la différence de température. La force généralisée pour un processus chimique est donc donnée par

$$X_{\text{chim}} = -\frac{1}{T} \sum_\gamma \nu_\gamma \mu_\gamma \equiv \frac{\mathcal{A}}{T}, \tag{9.45}$$

où μ_γ est le potentiel chimique du réactif γ.

La quantité $\mathcal{A} = -\sum_\gamma \nu_\gamma \mu_\gamma$ est dite *affinité*. La sommation se fait sur tous les réactifs et produits.

Le potentiel chimique est égal à

$$\mu_\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial n_\gamma}\right)_{n_{\gamma'},\, p,\, T} = \mu_\gamma^0 (p,\ T) + RT \ln c_\gamma, \tag{9.46}$$

G étant l'énergie libre de Gibbs et c_γ la concentration (l'activité) du réactif γ.

La constante d'équilibre de la réaction $K(p, T)$ est définie par la formule qui exprime la loi d'action de masse:

$$K(p, T) = c_{1\,\mathrm{eq}}^{\nu_1} c_{2\,\mathrm{eq}}^{\nu_2} \dots c_{r\,\mathrm{eg}}^{\nu_r} = \exp\left(-\frac{1}{RT}\sum_{\gamma=1}^{r} \nu_\gamma \mu_\gamma^0\right). \qquad (9.47)$$

L'indice eq désigne la concentration d'équilibre. A l'équilibre

$$\mathcal{A}_{\mathrm{eq}} = -\sum_\gamma \nu_\gamma \mu_\gamma^0 - RT\sum_\gamma \nu_\gamma \ln c_{\gamma\,\mathrm{eq}} = -\sum_\gamma \nu_\gamma \mu_\gamma^0 - RT \ln K(p, T) = 0. \qquad (9.48)$$

L'affinité est donc exprimée par la formule

$$\mathcal{A} = RT \ln \frac{K(p, T)}{c_1^{\nu_1} c_2^{\nu_2} \dots c_r^{\nu_r}}. \qquad (9.49)$$

D'autre part, suivant (9.44) à (9.46),

$$\mathcal{A} = -\sum_\gamma \nu_\gamma \frac{\partial G}{\partial n_\gamma}.$$

Mais

$$\left(\frac{\partial G}{\partial \xi}\right)_{p,\,T} = \sum_\gamma \frac{\partial G}{\partial n_\gamma}\frac{dn_\gamma}{d\xi} = \sum_\gamma \frac{\partial G}{\partial n_\gamma}\nu_\gamma.$$

Par conséquent,

$$\mathcal{A} = -\left(\frac{\partial G}{d\xi}\right)_{p,\,T}. \qquad (9.50)$$

§ 9.3. Couplage des flux

Les flux généralisés J_i sont fonction des forces généralisées et inversement: la vitesse de réaction chimique dépend de l'affinité et le flux d'énergie thermique de la différence de température. Dans l'approximation linéaire

$$J_i = \sum_{j=1}^{n} L_{ij} X_j, \quad i, j = 1, 2, \dots, n, \qquad (9.51)$$

où L_{ij} sont les *coefficients phénoménologiques*.

Quelques exemples simples de relations linéaires sont la loi de conductibilité thermique (flux de chaleur, la force généralisée étant la différence de températures inverses), la loi d'Ohm (où le flux est représenté par le courant électrique et la force par la différence de potentiel), la loi de diffusion de Fick (flux de matière avec, comme force, la différence de concentrations) et ainsi de suite.

Au voisinage de l'équilibre les coefficients phénoménologiques L_{ij} forment, conformément au *théorème d'Onsager*, une matrice symétrique, soit

$$L_{ij} = L_{ji}. \qquad (9.52)$$

Cela découle de façon rigoureuse du principe de réversibilité microscopique.

Les relations inverses de (9.51) peuvent être écrites sous la forme

$$X_i = \sum_{j=1}^{n} R_{ij} J_j, \tag{9.53}$$

les coefficients R_{ij} formant également une matrice symétrique.

Etant donné que $\sigma \geqslant 0$; les coefficients phénoménologiques L_{ij} (et, respectivement, R_{ij}) se voient imposer certaines conditions. Considérons, sans restreindre la généralité, le cas de deux forces et de deux flux:

$$\begin{aligned} J_1 &= L_{11}X_1 + L_{12}X_2, \\ J_2 &= L_{21}X_1 + L_{22}X_2. \end{aligned} \tag{9.54}$$

Selon (9.42), on a

$$\sigma = L_{11}X_1^2 + (L_{12} + L_{21}) X_1X_2 + L_{22}X_2^2 \geqslant 0. \tag{9.55}$$

La fonction de dissipation σ est positive pour toute valeur non nulle des variables X_1 et X_2; elle ne s'annule que lorsque $X_1 = X_2 = 0$. On a donc

$$L_{11} > 0, \quad L_{22} > 0 \tag{9.56}$$

et

$$(L_{12} + L_{21})^2 < 4L_{11}L_{22}. \tag{9.57}$$

Le caractère symétrique des coefficients ($L_{12} = L_{21}$) fait que

$$L_{12}^2 < L_{11}L_{22}. \tag{9.57a}$$

Le signe du coefficient non diagonal L_{12} peut être positif ou négatif. Dans le cas général,

$$L_{jj} > 0, \quad L_{ii}L_{jj} > L_{ij}. \tag{9.58}$$

Il est à souligner que la condition $\sigma \geqslant 0$ s'applique à la somme $\sum_i X_iJ_i$ considérée comme un entier. Certains termes de cette somme peuvent bien être négatifs. Cela veut dire qu'un flux séparé J_i est impossible, car $X_iJ_i < 0$. En d'autres termes, un tel flux serait en contradiction avec le second principe. Or, grâce à son couplage avec d'autres flux, auxquels correspondent des valeurs positives $X_jJ_j > 0$, un flux impensable dans un système fermé devient possible dans un système ouvert. La seule condition à remplir est la suivante:

$$\sum_{j \neq i} X_jJ_j > |X_iJ_i|.$$

Le couplage est déterminé par la non-nullité des coefficients non diagonaux L_{ij}. Citons un exemple: le mélange de deux gaz dans un récipient, dont les parois ont des températures différentes, se sépare spontanément de telle façon qu'un des gaz se concentre de préférence près de la paroi chaude et l'autre près de la paroi froide. C'est le phénomène de *thermodiffusion.* Le courant de matière va dans le sens opposé à celui de la baisse de concentration, car il est couplé au courant calorifique allant de la paroi chaude vers la paroi froide. Le manque d'entropie dans un des processus se trouve couvert par sa production excédentaire dans l'autre.

On voit que la production d'entropie dans un système ouvert assure, en principe, le déroulement de processus impossibles dans un système isolé. Ce fait est essentiel pour la compréhension des systèmes biologiques.

Les flux J_i et les forces X_i peuvent être aussi bien scalaires que vectoriels. Soient deux flux : scalaire J_s et vectoriel $\boldsymbol{J}_v$:

$$J_s = L_{ss}X_s + \boldsymbol{L}_{sv}\boldsymbol{X}_v, \quad \boldsymbol{J}_v = \boldsymbol{L}_{vs}X_s + \mathrm{L}_{vv}\boldsymbol{X}_v. \tag{9.59}$$

Le coefficient L_{ss} est un scalaire, $\boldsymbol{L}_{sv}$ et $\boldsymbol{L}_{vs}$ sont des vecteurs, enfin, L_{vv}, en tant que coefficient de proportionnalité entre deux vecteurs $\boldsymbol{X}_v$ et $\boldsymbol{J}_v$, est un tenseur. Si le système est isotrope, la force ne peut pas engendrer un flux ayant une autre dimension tensorielle : un scalaire ne peut engendrer un vecteur et inversement (*principe de Curie*). Par conséquent, dans ce cas $\boldsymbol{L}_{sv} = \boldsymbol{L}_{vs} = 0$ et

$$J_s = L_{ss}X_s, \quad \boldsymbol{J}_v = \mathrm{L}_{vv}\boldsymbol{X}_v.$$

Dans un système isotrope le couplage entre les processus scalaires et vectoriels est absent.

Démontrons cette affirmation. Lors de la transformation orthogonale des coordonnées une quantité tensorielle de rang n se transforme comme

$$L'_{i_1i_2\ldots i_n} = \sum_{j_1j_2\ldots j_n} U(j_1, i_1)\,U(j_2, i_2)\,\ldots\,U(j_n, i_n)\,L_{j_1j_2\ldots j_n},$$

j_k, i_k étant les coordonnées cartésiennes, $U(j_k, i_k)$ les éléments de la matrice de transformation, dont le déterminant vaut ± 1. Si le système est isotrope, il est invariant par rapport à la réflexion au centre (d'inversion), i.e. par rapport à la transformation $x' = -x$, $y' = -y$, $z' = -z$ que l'on peut écrire

$$r' = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} r \equiv Ir.$$

Si $U = I$, le tenseur L est transformé suivant la loi

$$\mathrm{L}' = (-1)^n\,\mathrm{L}$$

Mais, en vertu de l'invariance, $\mathrm{L}' = \mathrm{L}$, ce qui fait que tous les coefficients à n impairs, dont L est affecté, s'annulent. Dans notre cas pour $\boldsymbol{L}_{sv}$ et $\boldsymbol{L}_{sv}$ on a $n = 1$. Ces coefficients sont donc nuls.

Vu l'invariance du système isotrope par rapport aux rotations, le tenseur L_{vv} prend la forme

$$\mathrm{L}_{vv} = L_{vv}\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix},$$

devenant un scalaire.

Lorsque le système est anisotrope, mais possède un centre de symétrie (n'importe quels cristaux constitués de molécules symétriques et dépourvus de symétrie hélicoïdale), l'invariance par rapport à l'inversion est maintenue et, comme précédemment, $\boldsymbol{L}_{sv} = \boldsymbol{L}_{vs} = 0$.

21*

§ 9.4. Couplage des réactions chimiques

Le couplage des réactions chimiques entre elles et avec le processus de diffusion présente un intérêt particulier pour la biologie.

Considérons une réaction chimique élémentaire au voisinage de l'équilibre:

$$A \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} B.$$

L'équation cinétique de la réaction a la forme

$$\dot{c}_B = -\dot{c}_A = k_1 c_A - k_{-1} c_B. \tag{9.60}$$

Le flux (la vitesse de réaction) est

$$J_{\text{chim}} = v = -\dot{c}_A = \dot{c}_B. \tag{9.61}$$

A l'équilibre $v = 0$, $(\dot{c}_A)_{eq} = (\dot{c}_B)_{eq} = 0$, soit

$$k_1 (c_A)_{eq} = k_{-1} (c_B)_{eq}.$$

La constante d'équilibre s'écrit:

$$K = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{(c_B)_{eq}}{(c_A)_{eq}}.$$

Supposons que le système est déséquilibré, mais proche de l'équilibre. Alors

$$c_A = (c_A)_{eq} + \alpha_A, \quad c_B = (c_B)_{eq} + \alpha_B,$$

les écarts aux concentrations d'équilibre α_A et α_B étant petits:

$$\alpha_A \ll (c_A)_{eq}, \quad \alpha_B \ll (c_B)_{eq}.$$

Il est évident que

$$c_A + c_B = (c_A)_{eq} + (c_B)_{eq}$$

et que

$$\alpha_A + \alpha_B = 0.$$

Dans ces conditions

$$J_{\text{chim}} = k_1 ((c_A)_{eq} + \alpha_A) - k_{-1} ((c_B)_{eq} + \alpha_B) =$$
$$= \alpha_A (k_1 + k_{-1}) = k_1 \alpha_A \frac{1+K}{K}. \tag{9.62}$$

Dans ce cas l'affinité est égale à

$$\mathcal{A} = \mu_A - \mu_B. \tag{9.63}$$

A l'état d'équilibre $(\mu_A)_{eq} = (\mu_B)_{eq}$ et $\mathcal{A} = 0$. La thermodynamique linéaire donne (cf. (9.45))

$$J_{\text{chim}} = v = L \frac{\mathcal{A}}{T} = L \frac{\mu_A - \mu_B}{T}, \tag{9.64}$$

où L est un coefficient phénoménologique. En utilisant l'expression pour le potentiel chimique (9.46), on trouve

$$\mathcal{A}=\mu_A^0+RT\ln(c_A)_{eq}+RT\ln\left(1+\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\right)-$$

$$-\mu_B^0-RT\ln(c_B)_{eq}-RT\ln\left(1+\frac{\alpha_B}{(c_B)_{eq}}\right)-$$

$$=RT\left[\ln\left(1+\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\right)-\ln\left(1+\frac{\alpha_B}{(c_B)_{eq}}\right)\right]\approx$$

$$\approx RT\left[\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}-\frac{\alpha_B}{(c_B)_{eq}}\right]=RT\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\frac{1+K}{K},\qquad(9.65)$$

et, par conséquent,

$$J_{\text{chim}}=\frac{LR}{(c_A)_{eq}}\alpha_A\frac{1+K}{K}.\qquad(9.66)$$

En comparant (9.66) avec (9.62), on trouve la valeur du coefficient L:

$$L=\frac{k_1(c_A)_{eq}}{R}.\qquad(9.67)$$

Etant donné que $|\alpha_A|\ll(c_A)_{eq}$ et $|\alpha_B|/(c_B)_{eq}=|\alpha_A|/(c_B)_{eq}\ll\ll 1$, on a

$$\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\ll\frac{(c_B)_{eq}}{(c_A)_{eq}}=K.$$

Par conséquent,

$$\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\ll K\left(1-\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\right)\approx K,$$

ou bien

$$\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}}\frac{1+K}{K}\ll 1,$$

i.e. suivant (9.65),

$$\frac{\mathcal{A}}{RT}\ll 1.\qquad(9.68)$$

C'est justement la condition de proximité de l'équilibre, équivalente à $\alpha_A\ll(c_A)_{eq}$. Démontrons que la relation linéaire (9.64) est la conséquence directe de cette condition. En représentant la vitesse de réaction sous la forme

$$v=\dot{c}_B=k_1c_A-k_{-1}c_B=k_1c_A\left(1-\frac{k_{-1}}{k_1}\frac{c_B}{c_A}\right)=k_1c_A\left(1-\frac{1}{K}\frac{c_B}{c_A}\right)$$

et l'affinité $\mathcal{A}$ sous la forme (cf. (9.49))

$$\mathcal{A}=RT\ln\frac{K}{c_A^{-1}c_B},$$

il vient

$$\frac{c_B}{c_A}=K\exp\left(-\frac{\mathcal{A}}{RT}\right).$$

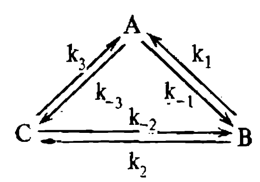
Cependant, si la condition de proximité de l'équilibre (9.68) est valable, en développant l'exponentielle en série et en se limitant au terme linéaire, on obtient

$$v = \frac{k_1 c_A}{R} \frac{\mathcal{A}}{T} = L \frac{\mathcal{A}}{T}.$$

A proximité de l'équilibre $c_A \approx (c_A)_{eq}$. On a donc de nouveau (v. (9.67))

$$L = \frac{k_1 (c_A)_{eq}}{R}.$$

Considérons maintenant le couplage de plusieurs réactions. Soient trois réactions formant un *cycle*:



Les flux s'écrivent

$$\begin{aligned} J_1 &= k_1 c_A - k_{-1} c_B, \\ J_2 &= k_2 c_B - k_{-2} c_C, \\ J_3 &= k_3 c_C - k_{-3} c_A. \end{aligned} \tag{9.69}$$

Les affinités sont égales à

$$\begin{aligned} \mathcal{A}_1 &= \mu_A - \mu_B, \quad \mathcal{A}_2 = \mu_B - \mu_C, \\ \mathcal{A}_3 &= \mu_C - \mu_A, \quad \mathcal{A}_1 + \mathcal{A}_2 + \mathcal{A}_3 = 0. \end{aligned} \tag{9.69a}$$

La fonction de dissipation, exprimée au moyen de variables indépendantes et multipliée par T, prend la forme

$$\sigma T = J_1 \mathcal{A}_1 + J_2 \mathcal{A}_2 + J_3 \mathcal{A}_3 = (J_1 - J_3)\mathcal{A}_1 + (J_2 - J_3)\mathcal{A}_2. \tag{9.70}$$

Les flux $J_1 - J_3$ et $J_2 - J_3$ sont indépendants. On a

$$\begin{aligned} J_1 - J_3 &= L_{11}\mathcal{A}_1 + L_{12}\mathcal{A}_2, \\ J_2 - J_3 &= L_{21}\mathcal{A}_1 + L_{22}\mathcal{A}_2. \end{aligned} \tag{9.71}$$

A l'équilibre $\mu_A^{eq} = \mu_B^{eq} = \mu_C^{eq}$, $\mathcal{A}_1^{eq} = \mathcal{A}_2^{eq} = 0$, $J_1 - J_3 = J_2 - J_3 = 0$ et $J_1 = J_2 = J_3 = 0$. Les flux sont nuls conformément au principe d'équilibre détaillé qui fournit une relation capitale pour les processus cinétiques cycliques:

$$k_1 k_2 k_3 = k_{-1} k_{-2} k_{-3}. \tag{9.72}$$

A proximité de l'équilibre

$$J_1 = k_1\alpha_A - k_{-1}\alpha_B,$$
$$J_2 = k_2\alpha_B - k_{-2}\alpha_C, \qquad (9.73)$$
$$J_3 = k_3\alpha_C - k_{-3}\alpha_A$$

et

$$\mathscr{A}_1 = RT\left(\frac{\alpha_A}{(c_A)_{eq}} - \frac{\alpha_B}{(c_B)_{eq}}\right) = \frac{RT}{k_1 (c_A)_{eq}}(k_1\alpha_A - k_{-1}\alpha_B),$$
$$\mathscr{A}_2 = RT\left(\frac{\alpha_B}{(c_B)_{eq}} - \frac{\alpha_C}{(c_C)_{eq}}\right) = \frac{RT}{k_2 (c_B)_{eq}}(k_2\alpha_B - k_{-2}\alpha_C). \qquad (9.74)$$

D'où

$$J_1 = \frac{k_1 (c_A)_{eq}}{RT}\mathscr{A}_1, \quad J_2 = \frac{k_2 (c_B)_{eq}}{RT}\mathscr{A}_2, \quad J_3 = -\frac{k_3 (c_C)_{eq}}{RT}(\mathscr{A}_1 + \mathscr{A}_2).$$

Par conséquent,

$$J_1 - J_3 = \frac{k_1 (c_A)_{eq} + k_3 (c_C)_{eq}}{R}\frac{\mathscr{A}_1}{T} + \frac{k_3 (c_C)_{eq}}{R}\frac{\mathscr{A}_2}{T},$$
$$J_2 - J_3 = \frac{k_3 (c_C)_{eq}}{R}\frac{\mathscr{A}_1}{T} + \frac{k_2 (c_B)_{eq} + k_3 (c_C)_{eq}}{R}\frac{\mathscr{A}_2}{T}. \qquad (9.75)$$

On trouve

$$L_{11} = \frac{k_1 (c_A)_{eq} + k_3 (c_C)_{eq}}{R}, \qquad L_{22} = \frac{k_2 (c_B)_{eq} + k_3 (c_C)_{eq}}{R}$$

et

$$L_{12} = L_{21} = \frac{k_3 (c_C)_{eq}}{R}.$$

Le théorème d'Onsager $L_{ij} = L_{ji}$ se vérifie automatiquement au voisinage de l'équilibre.

Le couplage des réactions chimiques dans un système ouvert rend possibles des réactions endergoniques interdites dans les systèmes fermés du fait que ces réactions conduisent à une augmentation de l'énergie libre. Nous avons déjà eu affaire à ce genre de processus: c'est le cas, notamment, de la formation des chaînes protéiques. En se formant, chaque liaison peptidique libère une molécule d'eau. L'eau étant en excès dans la cellule, c'est la réaction inverse d'hydrolyse des liaisons peptidiques qui devrait prévaloir. Mais, comme nous l'avons vu, la polycondensation est couplée à la réaction exergonique de désagrégation de l'ATP (v. chapitre 8), ce qui, au bout du compte, rend la fonction de dissipation positive. Le couplage des processus endergoniques avec l'hydrolyse de l'ATP a une valeur universelle en biologie. C'est au moyen de ce couplage que l'ATP réalise son rôle universel de donneur d'énergie libre, énergie indispensable pour le déroulement des processus endergoniques. Si les cellules et les organismes étaient des systèmes isolés, l'ATP ne pourrait jouer ce rôle.

Ainsi, déjà dans l'approximation linéaire la thermodynamique du non-équilibre prouve la possibilité de déroulement, dans les systèmes ouverts, de processus interdits dans les systèmes fermés. Cela présente un intérêt fondamental pour la biologie.

§ 9.5. Etats stationnaires des systèmes linéaires

Comme nous l'avons déjà dit au premier chapitre (p. 16), un système ouvert peut présenter un état stationnaire, quoique déséquilibré. Dans cet état la production d'entropie à l'intérieur du système est exactement compensée par sa dissipation vers le milieu de telle sorte que l'entropie totale du système ne varie pas (v. p. 16):

$$dS = d_iS + d_eS = 0. \tag{9.76}$$

Bertalanffy, un des fondateurs de la thermodynamique des systèmes biologiques ouverts, appelait cet état stationnaire état d'équilibre coulant (Flissgleichgewicht). Plusieurs caractéristiques d'un tel état sont autres que celles de l'équilibre vrai.

L'état stationnaire d'un système ouvert est réalisé, lorsque le système se voit imposer certaines contraintes qui fixent des valeurs constantes d'un certain ensemble de forces généralisées, les autres forces généralisées pouvant varier. Si $X_1, X_2, \ldots, X_j$ sont constants et $X_{j+1}, X_{j+2}, \ldots, X_n$ varient librement, on a

$$J_i = 0 \text{ pour } i > j, \ J_i \neq 0 \text{ pour } i \leqslant j.$$

L'entropie d'un tel système n'atteint pas son maximum et la fonction de dissipation σ est différente de zéro. Supposons que le système échange avec le milieu ambiant de la matière et de l'énergie, mais que sa masse demeure constante. Le système possède un flux thermique J_T, le flux de matière $J_M = 0$. Par conséquent.

$$\sigma = J_TX_T + J_MX_M \tag{9.77}$$

et

$$\begin{aligned} J_T &= L_{11}X_T + L_{12}X_M \neq 0, \\ J_M &= L_{21}X_T + L_{22}X_M = 0. \end{aligned} \tag{9.78}$$

En posant fixée la force X_T (mettons que c'est la différence de température fixe), on a

$$\sigma = L_{11}X_T^2 + (L_{12} + L_{21})\,X_TX_M + L_{22}X_M^2. \tag{9.79}$$

Dérivons cette expression par rapport à X_M avec $X_T = \text{const}$:

$$\frac{\partial\sigma}{\partial X_M} = 2L_{22}X_M + (L_{12} + L_{21})\,X_T.$$

Si le système est proche de l'équilibre et que le théorème d'Onsager soit vérifié, on a $L_{12} = L_{21}$ et

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_M} = 2\,(L_{12}X_T + L_{22}X_M) = 2J_M = 0. \qquad (9.80)$$

La dérivée seconde

$$\frac{\partial^2 \sigma}{\partial X_M^2} = 2L_{22} > 0.$$

Ainsi, dans l'état stationnaire proche de l'équilibre la production d'entropie σ est minimale. C'est le *théorème de Prigogine*, directement lié à celui d'Onsager. Il ne se vérifie que dans les cas où la thermodynamique linéaire est applicable, i.e. lorsque les coefficients L_{ij} ne dépendent pas de X_i.

Lorsque X_T peut également varier de façon arbitraire, $J_T = J_M = 0$, $\sigma = 0$ et le système atteint l'équilibre.

Considérons un système chimique ouvert. Le corps A y arrive de l'extérieur, subit une série de transformations successives à l'intérieur du système et le produit final F quitte le système:

$$\rightarrow \mathrm{A} \xrightarrow{1} \mathrm{B} \xrightarrow{2} \mathrm{C} \rightarrow \ldots \xrightarrow{r} \mathrm{F} \rightarrow$$

Les équations cinétiques sont de la forme

$$\frac{dn_\mathrm{A}}{dt} = \frac{d_\mathrm{ex}n_\mathrm{A}}{dt} - v_1, \quad \frac{dn_\mathrm{B}}{dt} = v_1 - v_2, \quad \ldots, \quad \frac{dn_\mathrm{F}}{dt} = \frac{d_\mathrm{ex}n_\mathrm{F}}{dt} + v_r, \quad (9.81)$$

où les dérivées dotées de l'indice ex caractérisent l'échange avec le milieu extérieur.

A l'état stationnaire, la teneur en tous les réactifs du système ouvert est constante:

$$\dot{n}_i = 0 \; (i = \mathrm{A}, \mathrm{B}, \ldots, \mathrm{F}).$$

Par conséquent, toutes les vitesses s'égalisent:

$$\frac{d_\mathrm{ex}n_\mathrm{A}}{dt} = v_1 = v_2 = \ldots = v_r = -\frac{d_\mathrm{ex}n_\mathrm{F}}{dt} = v. \qquad (9.82)$$

On peut l'illustrer à l'aide d'un modèle concret. Assimilons le déroulement d'une réaction chimique à l'écoulement d'un liquide. Si le système est fermé (le liquide n'est pas versé dans les récipients et ne s'en écoule pas), tout le liquide coulera du récipient supérieur dans le récipient inférieur avec la vitesse qui dépend de l'ouverture du robinet, après quoi on verra s'établir un état d'équilibre (fig. 9.1.) Le niveau du liquide dans le récipient inférieur représentera l'avancement de la réaction dans cet état.

Lorsque le système est ouvert (à écoulement), on verra s'installer, dans les deux récipients, un certain niveau de liquide ne corres-

pondant pas à l'équilibre (fig. 9.2). Ce niveau dépendra de la vitesse stationnaire d'écoulement, i.e. du degré d'ouverture du robinet. On voit que le robinet simule le catalyseur. Dans le système fermé le degré final d'avancement de la réaction ne dépend pas de sa vitesse (de l'ouverture du robinet); on y a finalement, dans le récipient inférieur, un niveau constant de liquide. Dans le système ouvert non seulement la vitesse, mais aussi l'avancement de la réaction dépen-

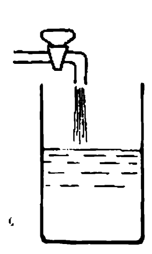


Fig. 9.1. Modèle d'un système fermé

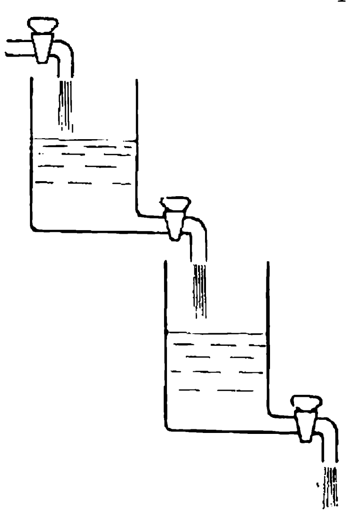


Fig. 9.2. Modèle d'un système ouvert

dent du catalyseur. Quand l'ouverture du robinet varie, on voit s'établir de nouveaux niveaux de liquide, un nouvel état stationnaire.

Démontrons que la condition de vitesses constantes équivaut au minimum de la production d'entropie. Nous avons pour notre système

$$T\sigma = \mathcal{A}_A \frac{d_{ex}n_A}{dt} + \sum_{i=1}^{r} \mathcal{A}_i v_i + \mathcal{A}_F \frac{d_{ex}n_F}{dt}, \tag{9.83}$$

où

$$\mathcal{A}_A = \mu_A^{(1)} - \mu_A^{(2)}, \; \mathcal{A}_F = \mu_F^{(1)} - \mu_F^{(2)},$$

l'indice 1 étant relatif au système et l'indice 2 au milieu ambiant. Dans l'état stationnaire

$$T\sigma = \left(\mathcal{A}_A + \sum_i \mathcal{A}_i - \mathcal{A}_F\right) v = \mathcal{A} v > 0, \tag{9.84}$$

où $\mathcal{A}$ correspond au processus total $A^{(2)} \rightarrow F^{(2)}$. D'autre part, dans la région linéaire

$$\sigma = \sum_{i=1}^{r+2} \sum_{j=1}^{r+2} L_{ij} \frac{\mathcal{A}_i}{T} \frac{\mathcal{A}_j}{T} > 0. \tag{9.85}$$

On détermine le minimum de (9.85) pour une valeur donnée de l'affinité totale $\mathcal{A}$ en utilisant le facteur de Lagrange 2λ. Dérivons la fonction

$$\Phi = \sum_i \sum_j L_{ij} \frac{\mathcal{A}_i}{T} \frac{\mathcal{A}_j}{T} - 2\lambda \sum_i \frac{\mathcal{A}_i}{T}$$

par rapport à $\mathcal{A}_i/T$ et égalons la dérivée à zéro. Il vient

$$\frac{\partial \Phi}{\partial (\mathcal{A}_i/T)} = 2 \sum_j L_{ij} \frac{\mathcal{A}_j}{T} - 2\lambda = 0.$$

La vitesse $v_i = \sum_j L_{ij} \mathcal{A}_j/T = \lambda = \text{const}$. On a donc démontré l'équivalence cherchée.

Nous l'avons déjà indiqué, un état stationnaire ne se réalise qu'en présence de deux échelles temporelles. L'état de la biosphère est approximativement stationnaire durant un temps qui est de loin inférieur à celui que le Soleil met à refroidir. Dans l'organisme l'écoulement stationnaire de matière et d'énergie (*homéostase* ou, plus exactement *homéorèse*, d'après Waddington) est maintenu pendant un temps de loin inférieur à celui qui sépare la naissance de la mort.

Définissons maintenant les conditions de stabilité de l'état stationnaire. Le théorème de Prigogine sur le minimum de production d'entropie σ fournit un critère d'évolution en montrant que le système retrouve de façon nécessaire l'état stationnaire hors d'équilibre à partir de tout état voisin.

Nous allons considérer, sans restreindre la généralité, deux réactions chimiques couplées. La fonction de dissipation y est positive:

$$\sigma_{\text{in}} = L_{11} \left(\frac{\mathcal{A}_1}{T}\right)^2 + 2L_{12} \frac{\mathcal{A}_1}{T} \frac{\mathcal{A}_2}{T} + L_{22} \left(\frac{\mathcal{A}_2}{T}\right)^2 > 0. \quad (9.86)$$

Calculons $\dot{\sigma}_{\text{in}}$ en posant les coefficients constants:

$$\frac{1}{2} \dot{\sigma}_{\text{in}} = \left(L_{11} \frac{\mathcal{A}_1}{T} + L_{12} \frac{\mathcal{A}_2}{T}\right) \frac{d(\mathcal{A}_1/T)}{dt} + \\ + \left(L_{12} \frac{\mathcal{A}_1}{T} + L_{22} \frac{\mathcal{A}_2}{T}\right) \frac{d(\mathcal{A}_2/T)}{dt} = v_1 \frac{d(\mathcal{A}_1/T)}{dt} + v_2 \frac{d(\mathcal{A}_2/T)}{dt}. \quad (9.87)$$

Dans le système fermé $\mathcal{A}_1$ et $\mathcal{A}_2$ dépendent des coordonnées réactionnelles ξ_1 et ξ_2, ainsi que de la pression et de la température que nous poserons constantes. On a

$$\frac{1}{2} \dot{\sigma}_{\text{in}} = \frac{v_1}{T} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_1} v_1 + \frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_2} v_2\right) + \frac{v_2}{T} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_1} v_1 + \frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_2} v_2\right). \quad (9.88)$$

Nous avons vu que l'affinité $\mathcal{A}$ est la dérivée de l'énergie libre du système par rapport à la coordonnée de la réaction correspon-

dante, prise avec le signe moins, ce qui vérifie l'égalité (9.50):

$$\mathcal{A}_i = -\frac{\partial G}{\partial \xi_i}.$$

Par conséquent, $\partial \mathcal{A}_1/\partial \xi_2 = \partial \mathcal{A}_2/\partial \xi_1$ et on a

$$\frac{1}{2}\dot{\sigma}_{\text{in}} = \frac{1}{T}\left(\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_1} v_1^2 + 2\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_2} v_1 v_2 + \frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_2} v_2^2\right) < 0. \quad (9.89)$$

La quantité $\dot{\sigma}_{\text{in}}$ est négative, car les quantités $\mathcal{A}_i$ décroissent, lorsque ξ_i augmentent; à l'équilibre $\mathcal{A}_i = 0$.

Dans le système fermé la production d'entropie ne peut que diminuer avec le temps. Dans le système ouvert, où il y a échange de matière avec l'extérieur, la variation totale de l'entropie est décrite par l'expression

$$\frac{1}{2}\dot{\sigma} = \frac{1}{2}\dot{\sigma}_{\text{in}} + \frac{1}{T}\sum_{\gamma}\left(v_1\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial n_\gamma} + v_2\frac{d\mathcal{A}_2}{dn_\gamma}\right)\frac{\partial_{\text{ex}} n_\gamma}{\partial t}. \quad (9.90)$$

Ici le premier terme est toujours négatif, le signe du second dépendant de la situation concrète. Les processus internes irréversibles réduisent, dans tous les cas, la vitesse de production d'entropie. Comme il découle de l'inégalité $\dot{\sigma}_{\text{in}} < 0$, un système ayant atteint l'état à la production minimale d'entropie ne peut plus le quitter de façon spontanée.

La différentielle de la fonction de dissipation peut être représentée sous la forme

$$d\sigma = d_J\sigma + d_X\sigma = \sum_i X_i\, dJ_i + \sum_i J_i\, dX_i. \quad (9.91)$$

Dans la région linéaire, par suite de la condition d'Onsager, $d_X\sigma = d_J\sigma = {}^1/_2 d\sigma$, i. e. $d_X\sigma$ est une différentielle totale (c'est cette différentielle qui figure dans (9.88) où les flux v_i sont posés constants). On a donc

$$\frac{d_X\sigma}{dt} = \frac{1}{2}\frac{d\sigma}{dt}.$$

Dans l'état stationnaire $\dot{\sigma}_{\text{in}} < 0$, soit $d_X\sigma < 0$, $d\sigma < 0$. La condition variationnelle de stabilité consiste donc en ce que

$$\delta\sigma = 2\delta_X\sigma \geqslant 0. \quad (9.92)$$

Le signe de la variation est inverse de celui de la différentielle: la fluctuation ne peut provoquer qu'une production excédentaire d'entropie. Supposons que $J_M = 0$ pour l'état stationnaire (v. p. 328). Alors pour la fluctuation δX_M on a $J_M = L_{MM}\delta X_M$, où $L_{MM} > 0$ et

$$\delta_X\sigma = J_M\delta X_M = L_{MM}(\delta X_M)^2 > 0.$$

Pour une réaction chimique cette condition a la forme

$$T\delta_X\sigma=\sum_i v_i\delta\mathcal{A}_i>0.$$

Dans l'état stationnaire

$$Td_X\sigma=\sum_i v_i^{st}\,d\mathcal{A}_i=0,$$

si tous les $\mathcal{A}_i$ sont indépendants. On peut toujours le réaliser en formant des combinaisons linéaires appropriées de vitesses et d'affinités réactionnelles. Il est donc possible de poser nulles les valeurs stationnaires v_i^{st}, d'où il vient

$$v_i = v_i^{st} + \delta v_i = \delta v_i,$$

la condition de stabilité de l'état stationnaire prenant la forme

$$T\delta_X\sigma=\sum_i \delta v_i\delta\mathcal{A}_i>0. \qquad (9.93)$$

Comme nous l'avons vu (voir, par exemple, (9.79)), σ est exprimé par une fonction quadratique de X. Schématisons-le (fig. 9.3) pour le cas de deux forces, X_1 et X_2. Si, à $X_1=\text{const}$, la force X_2 est variable, le point représentant la quantité σ se déplacera suivant la parabole résultant de l'intersection de la surface σ (X_1, X_2) et du plan X_1 = const jusqu'à ce qu'il atteigne le minimum de σ. En l'absence de toute contrainte, la quantité σ se déplacera à la surface jusqu'au point d'équilibre $\sigma = 0$.

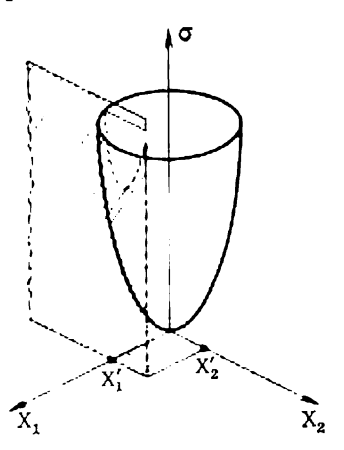


Fig. 9.3. Schéma illustrant le comportement d'un système linéaire stationnaire

Un système linéaire qui s'est écarté de son état stationnaire proche de l'équilibre le retrouve de façon exponentielle, sans oscillations:

$$\delta\xi = \xi\,(t) - \xi^{st} = (\xi\,(0) - \xi^{st})\exp\,(-t/\tau), \qquad (9.94)$$

où ξ^{st} est la valeur stationnaire de la coordonnée réactionnelle et τ le *temps de relaxation.*

§ 9.6. Couplage entre les réactions chimiques et le transport de matière

L'organisme, la cellule sont des machines chimiques qui fonctionnent par réactions chimiques et par transport de matière entre la cellule et le milieu, ainsi qu'à l'intérieur de la cellule. Le transport a une direction déterminée, perpendiculaire aux membranes cellu-

laire et intracellulaires. Le flux de matière est un vecteur. Or, la vitesse de réaction chimique est un scalaire. Comme nous l'avons déjà dit (p. 323), le principe de Curie interdit le couplage direct d'un processus scalaire et d'un processus vectoriel dans un système isotrope. Ce couplage est également impossible dans les systèmes anisotropes possédant un centre de symétrie. Mais les systèmes biologiques qui sont le siège d'un couplage des réactions chimiques et de la diffusion (il s'agit des membranes) sont constitués de molécules chirales n'ayant ni plan ni centre de symétrie (§ 2.7). Les membranes sont anisotropes. Le couplage direct est possible, en principe, dans ces systèmes, les coefficients vectoriels $\boldsymbol{L}_{sv} = \boldsymbol{L}_{vs}$ pouvant différer de zéro. La théorie qui décrirait le couplage direct des processus chimiques et de la diffusion dans les membranes en tenant directement compte de leur anisotropie et de leur chiralité, est encore inexistante. On peut imaginer, par exemple, que des réactifs se déplacent le long d'un canal hélicoïdal dans la membrane qui abrite les centres. La réaction se déroulera alors différemment pour les réactifs arrivant par l'un ou l'autre bout du canal. On aboutira au même résultat en considérant un canal symétrique portant, à distances régulières, des centres réactionnels asymériques (chirals). Cependant, rien ne permet d'affirmer, actuellement, que ces effets sont significatifs.

La corrélation entre les réactions chimiques et le transport de matière peut résulter non pas du couplage direct, mais d'un *couplage indirect*, conséquence de la condition de stationnarité. Dans l'état stationnaire on voit apparaître une liaison entre les processus irréversibles ne présentant pas de couplage direct. Reprenons l'exemple examiné à la page 329. Si l'on introduit, à côté des substances intervenant dans la réaction

$$\to A \to \to \ldots \to F \to,$$

un corps inerte Q qui n'y participe pas, son transport sera néanmoins conjugué à celui de A. Il vient alors

$$\begin{aligned} T\,\frac{d_{ex}n_A}{dt} &= L_{11}\mathcal{A}_A + L_{12}\mathcal{A}_Q, \\ T\,\frac{d_{ex}n_Q}{dt} &= L_{12}\mathcal{A}_A + L_{22}\mathcal{A}_Q, \\ T\,\frac{d_{ex}n_F}{dt} &= L_F\mathcal{A}_F, \\ Tv &= L_{chim}\mathcal{A}_{chim}. \end{aligned} \tag{9.95}$$

La dernière équation se rapporte à la réaction chimique totale A→F. Il découle des conditions de stationnarité

$$\frac{dn_A}{dt} = \frac{d_{ex}n_A}{dt} - v = 0, \quad \frac{dn_F}{dt} = \frac{d_{ex}n_F}{dt} + v = 0,$$

$$\frac{dn_Q}{dt} = \frac{d_{ex}n_Q}{dt} = 0.$$

On obtient

$$\mathcal{A}_A = \frac{Tv}{L_{11} - L_{12}^2/L_{22}}, \quad \mathcal{A}_F = -\frac{Tv}{L_F}, \quad \mathcal{A}_Q = -\frac{TvL_{12}/L_{22}}{L_{11} - L_{12}^2/L_{22}}. \quad (9.96)$$

L'affinité $\mathcal{A}_Q$ de la composante inerte est différente de zéro et proportionnelle à la vitesse de la réaction chimique à laquelle ce corps ne participe pas. La réaction crée une différence entre les concentrations du corps Q à l'intérieur et à l'extérieur du système :

$$c_Q^{(1)}/c_Q^{(2)} = K \exp(-\mathcal{A}_Q/RT). \quad (9.97)$$

C'est ainsi qu'est réalisé le couplage indirect du transport d'un corps inerte et d'une réaction chimique.

Considérons le couplage indirect sous sa forme générale (Katchalsky et Oster). Ecrivons la fonction de dissipation pour un système associant le transport de matière (la force généralisée étant le gradient de potentiel chimique) à une réaction chimique :

$$T\sigma = \sum_i J_i \nabla(-\mu_i) - v \sum_i \nu_i \mu_i. \quad (9.98)$$

La condition de continuité pour l'i-ème composante s'écrit

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -\nabla J_i + \nu_i v. \quad (9.99)$$

La condition de stationnarité qui prévoit la constance de la concentration c_i, est $\dot{c}_i = 0$, soit

$$\nabla J_i = \nu_i v. \quad (9.100)$$

En substituant (9.100) dans (9.98), on trouve

$$T\sigma = -\nabla \sum_i J_i \mu_i. \quad (9.101)$$

Intégrons σ pour un flux unidimensionnel le long de l'axe des x de $x = 0$ jusqu'à x a. La dissipation totale par unité de surface est

$$\sigma_{\text{tot}} = \int_0^a \sigma\, dx = \frac{1}{T} \sum_i (J_i(0)\mu_i(0) - J_i(a)\mu_i(a)). \quad (9.102)$$

L'intégration analogue de ∇J_i donne (cf. (9.100))

$$\int_0^a \frac{dJ_i}{dx} dx = J_i(a) - J_i(0) = \nu_i \int_0^a v\, dx + \nu_i J_{\text{chim}}^{\text{tot}}. \quad (9.103)$$

On déduit de deux dernières équations

$$T\sigma_{\text{tot}} = \sum_i J_i(0)\,[\mu_i(0) - \mu_i(a)] + J_{\text{chim}}^{\text{tot}} \sum_i [-\nu_i \mu_i(a)] \quad (9.104)$$

ou

$$T\sigma_{\text{tot}} = \sum_i J_i(a)\,[\mu_i(0) - \mu_i(a)] + J_{\text{chim}}^{\text{tot}} \sum_i [-\nu_i \mu_i(0)]. \quad (9.104a)$$

Les sommes dans les derniers termes des seconds membres expriment les valeurs de l'affinité de la réaction aux frontières de la membrane $x = 0$ et $x = a$ pour les composants qui pénètrent dans la membrane. En passant aux équations phénoménologiques, nous écrirons

$$\begin{aligned} J_i(0) &= \sum_j L_{ij}(0)\,\Delta\mu_j + L_{i,\,\text{chim}}(0)\,\mathcal{A}(a), \\ J_{\text{chim}}^{\text{tot}} &= \sum_i L_{\text{chim},\,i}(0)\,\Delta\mu_i + L_{\text{chim}}(0)\,\mathcal{A}(a), \end{aligned} \tag{9.105}$$

ou bien

$$\begin{aligned} J_i(a) &= \sum_j L_{ij}(a)\,\Delta\mu_i + L_{i,\,\text{chim}}(a)\,\mathcal{A}(0), \\ J_{\text{chim}}^{\text{tot}} &= \sum_i L_{\text{chim},\,i}(a)\,\Delta\mu_i + L_{\text{chim}}(a)\,\mathcal{A}(0). \end{aligned} \tag{9.105a}$$

Dans les expressions macroscopiques (intégrées) on trouve les coefficients non diagonaux $L_{i,\,\text{chim}}(0)$ et $L_{i,\,\text{chim}}(a)$. Sont-ils symétriques? Les expressions locales non intégrées ne présentent aucun coefficient non diagonal pour la chimie et la diffusion, car le système est isotrope et le principe de Curie est valable. En d'autres termes,

$$J_i = \sum_j l_{ij} \nabla(-\mu_j), \qquad v = l_{\text{chim}}\mathcal{A}, \tag{9.106}$$

où l sont les coefficients phénoménologiques locaux. La même chose est valable pour les expressions inverses

$$\nabla(-\mu_j) = \sum_i r_{ji} J_i, \quad \mathcal{A} = r_{\text{chim}} v = l_{\text{chim}}^{-1} v. \tag{9.107}$$

Etablissons la relation entre les coefficients locaux et macroscopiques. En appliquant à la première équation de (9.107) l'opérateur ∇, on obtient

$$\nabla^2(-\mu_i) = \sum_j r_{ij} \nabla J_j.$$

En substituant la condition de stationnarité (9.100), on trouve

$$\nabla^2(-\mu_i) = \Big(\sum_j \nu_j r_{ij}\Big) v = \Big(l_{\text{chim}} \sum_j \nu_j r_{ij}\Big) \mathcal{A}.$$

Multiplions les deux membres de cette équation par ν_i et sommons sur i. Comme $\mathcal{A} = -\sum_i \nu_i \mu_i$, il vient

$$\sum_i \nu_i \nabla^2(-\mu_i) = \nabla^2 \mathcal{A} = \Big(l_{\text{chim}} \sum_{i,\,j} \nu_i \nu_j r_{ij}\Big) \mathcal{A}. \tag{9.108}$$

Nous avons obtenu une équation différentielle pour $\mathcal{A}$. Le coefficient affectant $\mathcal{A}$ est mesuré en cm^{-2}. Désignons-le par λ^{-2} (λ est la longueur de relaxation). On a

$$\lambda^2 \nabla^2 \mathcal{A} = \mathcal{A}. \tag{9.108a}$$

La solution de cette équation est de la forme

$$\mathcal{A}(x) = \frac{\mathcal{A}(a)\,\mathrm{sh}(x/\lambda) + \mathcal{A}(0)\,\mathrm{sh}[(a-x)/\lambda]}{\mathrm{sh}(a/\lambda)}. \tag{9.109}$$

Pour passer aux expressions macroscopiques, il faut intégrer les relations locales. L'intégration de (9.100) de 0 à x donne

$$\int_0^x \frac{dJ_i}{dx}\,dx = J_i(x) - J_i(0) = \nu_i l_{\text{chim}} \int_0^x \mathcal{A}\,dx, \qquad (9.110)$$

En y substituant (9.1‹9) et en intégrant, on trouve

$$J_i(x) J_i(0) = +\frac{\nu_i \lambda l_{\text{chim}}}{\text{sh}(a/\lambda)} \{\mathcal{A}(0)(\text{ch}(x/\lambda) - 1) - \\ - \mathcal{A}(0)(\text{ch}[(a-x)/\lambda] - \text{ch}(a/\lambda))\}. \qquad (9.111)$$

D'autre part, conformément à (9.106), le premier membre de cette expression est égal à

$$J_i(x) = \sum_j l_{ij} \nabla(-\mu_j).$$

Portons cette expression dans (9.111) et intégrons de 0 à a. Etant donné que

$$-\int_0^a \frac{d\mu_i}{dx}\,dx = \mu_i(0) - \mu_i(a) = \Delta\mu_i$$

et que

$$\mathcal{A}(a) - \mathcal{A}(0) = -\sum_i \nu_i \mu_i(a) + \sum_i \nu_i \mu_i(0) = \sum_i \nu_i \Delta\mu_i,$$

l'intégration conduit à

$$J_i(0)\cdot a = \sum_j [l_{ij} + \nu_i \nu_j \lambda l_{\text{chim}}(a\,\text{coth}(a/\lambda) - \lambda)]\,\Delta\mu_j - \\ - [\nu_i \lambda l_{\text{chim}} a\,\text{th}(a/2\lambda)]\,\mathcal{A}(a). \qquad (9.112)$$

Divisons l'expression (9.112) par a et obtenons les expressions phénoménologiques macroscopiques. Notons

$$\lambda l_{\text{chim}}[\text{coth}(a/\lambda) - \lambda/a] = \alpha, \quad \lambda l_{\text{chim}}\,\text{th}(a/2\lambda) = \beta.$$

On trouve finalement

$$J_i(0) = \sum_j (l_{ij}/a + \nu_i \nu_j \alpha)\,\Delta\mu_j - \nu_i \beta \mathcal{A}(a),$$

ce qui coïncide avec (9.105), alors que

$$L_{ij}(0) = l_{ij}/a + \nu_i \nu_j \alpha,$$
$$L_{i,\,\text{chim}}(0) = -\nu_i \beta.$$

Le calcul de $J_{\text{chim}}^{\text{tot}}$ donne

$$J_{\text{chim}}^{\text{tot}} = \int_0^a J_{\text{chim}}\,dx = l_{\text{chim}} \int_0^a \mathcal{A}\,dx = \lambda l_{\text{chim}}[\mathcal{A}(a) + \mathcal{A}(0)]\,\text{th}(a/2\lambda) = \\ = -\sum_i \nu_i \beta \Delta\mu_i + 2\beta \mathcal{A}(a). \qquad (9.114)$$

En comparant (9.114) avec la seconde équation de (9.105), on trouve

$$L_{\text{chim},\,i}(0) = -\nu_i \beta, \quad L_{\text{chim}}(0) = 2\beta. \qquad (9.115)$$

Ainsi, les coefficients macroscopiques qui caractérisent le couplage indirect des flux de diffusion et de la réaction chimique, se trouvent exprimés en fonction des coefficients microscopiques. Les relations de symétrie d'Onsager restent valables. La valeur non nulle des coefficients macroscopiques de couplage est définie dans un système isotrope par les conditions de stationnarité.

Comme nous le verrons plus loin, le couplage indirect joue un rôle important dans la théorie du transport à travers les membranes (v. chap. 10 et 13). Au chapitre 10 nous parlerons également du couplage indirect lors du *transport facilité* faisant intervenir les molécules-*carriers*.

§ 9.7. Processus éloignés de l'équilibre

Les systèmes vivants se distinguent par le caractère hautement ordonné de leur structure et de leur comportement dans l'espace et dans le temps. Nous avons déjà noté une contradiction apparente entre la complexité croissante du système au cours de son développement biologique et le second principe de la thermodynamique (p. 10). Cette contradiction est facilement levée: le système vivant est un système ouvert, dont l'entropie peut aussi bien augmenter que diminuer. On parle usuellement de l'« antientropicité » de la vie. Mais ces mots n'expliquent aucunement les particularités de l'ordre spatio-temporel du système ouvert: la notion d'antientropicité reste inexplicitée.

Dans la nature on rencontre deux types d'ordre: ordre statique et ordre dynamique. Dans le premier cas l'ordre se réalise dans des conditions d'équilibre thermodynamique, à une température suffisamment basse, comme, par exemple, lors de la cristallisation d'un liquide. L'ordre statique résulte d'une transition de phase, dont les conditions sont équilibrées. La biologie n'a pratiquement jamais affaire à ce genre d'ordre: le *cristal apériodique* de Schrödinger (p. 11) diffère par principe du cristal périodique équilibré. L'ordre dynamique d'un système vivant n'est pas la conséquence de la diminution de l'entropie due à la baisse de la température: il est réalisé, parce qu'il y a écoulement d'entropie du système ouvert vers le milieu environnant. L'apparition d'une structure spatio-temporelle présente, là aussi, le caractère d'une *transition de phase*, mais cette dernière n'est pas équilibrée. L'étude de l'ordre dynamique, d'importance fondamentale pour la physique et la biologie, n'a été commencée que récemment. On connaît actuellement une série de systèmes non biologiques (chimiques, notamment) servant de modèles, où l'on observe de l'ordre dynamique. On en parlera au chapitre 16. Ici nous citerons à titre d'exemple l'ordre dynamique qui se manifeste dans le rayonnement de laser. Les atomes du laser sont excités de l'extérieur par pompage lumineux. Chaque atome agit comme une antenne en émettant une impulsion lumineuse longue de près de 3 mètres, l'émission durant 10^{-8} s. Chaque atome

émet la lumière de façon indépendante, sans subir l'influence d'un autre atome. Toutefois, lorsque le pompage atteint un certain niveau, il se produit un passage brusque à la radiation cohérente d'impulsions lumineuses très longues (jusqu'à 300 000 km!) d'une intensité beaucoup plus grande. Le laser est un système ouvert éloigné de l'équilibre, dans lequel apparaît un ordre dynamique: auto-organisation de radiateurs cohérents.

Comme nous le verrons plus loin, l'ordre dynamique, l'apparition des structures dynamiques et leur comportement ordonné dans le temps ne sont possibles que loin de l'équilibre. La thermodynamique linéaire du non-équilibre, sommairement exposée dans ce chapitre, n'est valable qu'au voisinage de l'équilibre. Ses principes fondamentaux sont exprimés par les relations (9.51) et (9.80). La première définit le couplage de processus cinétiques différents par suite de la valeur non nulle des coefficients non diagonaux L_{ij} $(i \neq j)$; la seconde est l'expression mathématique du théorème de Prigogine relatif au minimum de production d'entropie dans l'état stationnaire. Il est certain que des processus couplés se réalisent dans les systèmes ouverts biologiques. La théorie phénoménologique générale d'Onsager-Prigogine permet donc d'expliquer des phénomènes biologiques d'importance capitale. Le problème de l'application du théorème de Prigogine aux systèmes biologiques est plus compliqué. Comme nous l'avons vu, la production d'entropie σ n'est minimale que dans les états stationnaires des systèmes biologiques qui sont proches de l'équilibre. Ces systèmes sont décrits par les relations linéaires (9.51). Or, en physique la dépendance linéaire des réactions d'un système avec l'effet qui a provoqué cette réaction n'est toujours qu'une première approximation valable pour les petits effets. Dans notre cas « petit » veut dire peu éloigné de l'équilibre. On ne peut considérer les systèmes biologiques et leur ordre dynamique qu'en dehors de la thermodynamique linéaire.

Penchons-nous sur les systèmes éloignés de l'équilibre. On peut rencontrer trois types de situations. D'abord, l'hypothèse de l'équilibre local peut ne pas être valable (les relations d'Onsager $L_{ij} = L_{ji}$ ne sont pas vérifiées). Deuxièmement, en présence d'un équilibre local les caractéristiques du système peuvent présenter une variation continue au fur et à mesure que le système s'écarte de l'équilibre. Dans ce cas le système garde certaines propriétés des systèmes linéaires: notamment, le théorème du minimum de la production d'entropie dans l'état stationnaire demeure valable. Enfin, dans le troisième cas, on voit s'établir un ordre dynamique avec de nouveaux types d'organisation de la matière dans l'espace et dans le temps qui ne sont inhérents qu'aux systèmes ouverts et éloignés de l'équilibre, dits *systèmes dissipatifs*.

Il est évident que l'apparition de l'ordre dynamique est le résul-

tat de l'instabilité des états équilibrés et stationnaires du système. Considérons donc les critères de stabilité correspondants.

Lorsque le système ne produit pas d'entropie, $d_iS = 0$ et, dans le cas particulier où il y a dégagement de chaleur dQ,

$$dS = d_eS = dQ/T,$$

où d_eS est le flux d'entropie. Lorsque $d_iS \geqslant 0$, on a

$$d_iS = dS - dQ/T \geqslant 0.$$

En portant dans cette expression la loi de la conservation de l'énergie sous la forme

$$dQ = dE + p\,dV,$$

où E est l'énergie du système, on obtient l'expression du second principe

$$Td_iS = T\,dS - dE - p\,dV \geqslant 0. \quad (9.116)$$

La condition de stabilité de l'état d'équilibre a la forme (avec p et T constants)

$$\delta E + p\,\delta V - T\delta S \geqslant 0. \quad (9.117)$$

S et V étant constants, la variation $\delta E \geqslant 0$, i. e. l'énergie est minimale pour l'équilibre stable. A l'équilibre $(\delta E)_{eq} = 0$, $(\delta^2 E)_{eq} > 0$. Par contre, pour les systèmes à E et V constants,

$$\delta S \leqslant 0, \quad (\delta S)_{eq} = 0, \quad (\delta^2 S)_{eq} < 0, \quad (9.118)$$

l'entropie étant maximale à l'état d'équilibre. Dans le cas des réactions chimiques cela veut dire que

$$\left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi}\right)_{eq} (\delta\xi)^2 < 0,$$

puisque

$$\Delta S = \int \sigma\,dt = \int \frac{\mathcal{A}}{T} v\,dt = \int_{\xi_{eq}}^{\xi} \frac{\mathcal{A}}{T}\,d\xi.$$

La condition

$$\left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi}\right)_{eq} < 0$$

est donc déduite de (9.118). Le critère général de stabilité pour l'ensemble des réactions chimiques peut être représenté sous la forme

$$\sum_{i,j} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_i}{\partial \xi_j}\right)_{eq} \delta\xi_i\,\delta\xi_j < 0. \quad (9.119)$$

Cette condition thermodynamique est équivalente à la condition cinétique. Lorsque $t \to \infty$, la variation $\delta\xi \to 0$. Au voisinage de

l'équilibre les fluctuations $\delta\xi$ satisfont aux équations linéaires

$$\frac{d(\delta\xi_i)}{dt} = \sum_j a_{ij}\,\delta\xi_j \tag{9.120}$$

avec les solutions

$$\delta\xi_i = (\delta\xi_i)_{t=0} \exp(\lambda t),$$

toutes les valeurs propres de λ, racines de l'équation

$$\| a_{ij} - \lambda\delta_{ij} \| = 0,$$

étant réelles et négatives, $\lambda < 0$, ce qui veut dire que les fluctuations décroissent de façon monotone (cf. p. 333).

A proximité de l'équilibre l'affinité est exprimée par la formule

$$\mathcal{A}_i \approx \sum_j \left(\frac{\partial \mathcal{A}_i}{\partial \xi_j}\right)_{\text{eq}} \delta\xi_j,$$

car $(\mathcal{A})_{\text{eq}} = 0$. La fonction de dissipation s'écrit

$$\sigma = \sum_i v_i \frac{\mathcal{A}_i}{T} \equiv \sum_i \frac{d\xi_i}{dt} \frac{\mathcal{A}_i}{T} = \sum_i \frac{d(\delta\xi_i)}{dt} \frac{\mathcal{A}_i}{T} \geqslant 0.$$

En substituant dans cette expression les valeurs de $\mathcal{A}_i$ et de $\delta\xi_i$, on obtient pour chaque valeur de λ

$$\lambda \sum_{i,j} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_i}{\partial \xi_j}\right)_{\text{eq}} \delta\xi_i\,\delta\xi_j > 0,$$

ce qui coïncide avec (9.119) étant donné que $\lambda < 0$.

Nous avons déjà considéré plus haut la condition de stabilité pour un état hors d'équilibre, mais stationnaire, proche de l'état d'équilibre. Dans le cas des réactions chimiques cette condition se présente sous la forme (9.93)

$$\sum_i \delta v_i\,\delta\mathcal{A}_i \geqslant 0.$$

Soit une réaction chimique

$$\mathrm{X + Y \to C + D}.$$

Notons de la même façon les réactifs et leurs concentrations. Il vient

$$\mathcal{A} \sim \ln\frac{XY}{CD}, \quad v \sim XY.$$

La fluctuation de la concentration X à proximité de l'état stationnaire conduit à une production d'entropie en excès proportionnelle à

$$\delta v\,\delta\mathcal{A} \sim \frac{Y}{X}(\delta X)^2 > 0.$$

La condition de stabilité est vérifiée.

Examinons maintenant une *réaction autocatalytique*, au cours de laquelle la concentration en corps de départ augmente :

$$X + Y \rightarrow 2X.$$

On a toujours $v \sim XY$, mais

$$\mathcal{A} \sim \ln \frac{XY}{X^2} = \ln \frac{Y}{X}$$

et

$$\delta v \, \delta \mathcal{A} \sim -\frac{Y}{X} (\delta X)^2 < 0.$$

La condition de stabilité n'est plus satisfaite. Elle est pourtant maintenue à proximité de l'équilibre. Pour trouver les conditions d'équilibre, il est nécessaire de tenir compte de la réaction inverse

$$X + Y \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} 2X.$$

Il vient alors

$$v = k_1 XY - k_{-1} X^2,$$
$$\delta v = k_1 Y \delta X - 2k_{-1} X \delta X.$$

A l'équilibre $k_1 Y = k_{-1} X$ et on a

$$\delta v = -k_{-1} X \delta X \text{ et } \delta v \, \delta \mathcal{A} \sim (\delta X)^2 > 0.$$

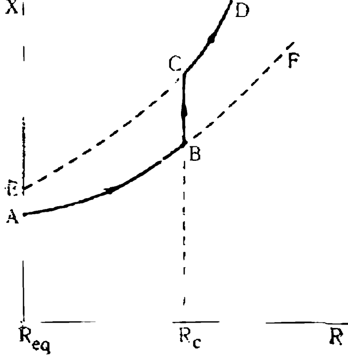


Fig. 9.4. Concentration stationnaire de la substance intermédiaire en fonction du paramètre R

On voit donc qu'un système dissipatif peut effectivement présenter, loin de l'équilibre, des états instables. Quand une instabilité surgit dans un certain état initial, cela veut dire que le système passe à un nouveau régime, auquel peut répondre un autre type de comportement. Supposons qu'il y a un système non linéaire de réactions chimiques, au cours desquelles les substances de départ A se transforment en produits finals F. Un tel système peut être caractérisé par un paramètre R dépendant de l'affinité générale, i.e. du rapport des concentrations de A et de F et de la constante d'équilibre. Sur la figure 9.4 la concentration stationnaire de la substance intermédiaire est représentée en tant qu'une fonction de R. Tant que les écarts à l'équilibre $| R - R_{eq} |$ sont petits, le système se déplace sans à-coups le long de la *branche thermodynamique* (*statique*) AB de la figure 9.4. Tous les états stationnaires situés sur cette branche sont stables et vérifient le théorème du minimum de production d'entropie. Cependant, lorsqu'on est suffisamment loin de l'équilibre, pour une certaine valeur de seuil R_c, la production d'entropie

en excès qui s'écrit

$$\delta_X \sigma = \frac{1}{T} \sum_i \delta v_i \, \delta \mathcal{A}_i$$

peut devenir négative. Alors une instabilité apparaît et le système passe sur une autre *branche*, *CD*, dite *cinétique* (*dynamique*), où l'on trouve de nouveau des états stables. Sur la figure 9.4 *EC* et *BF* sont les régions des états instables. Le long de la branche cinétique on peut voir apparaître une organisation du système dans le temps (par exemple, des oscillations entretenues), une organisation dans l'espace et de nouveaux états stationnaires multiples.

Une fois le seuil R_c atteint, il se produit une transition telle qu'une transition de phase par suite de l'amplification des fluctuations qui atteignent le niveau macroscopique. Un nouveau régime, une nouvelle structure deviennent stables. Cet effet est certainement compatible avec les conditions aux limites imposées au système. Tel est le comportement d'un laser. L'*instabilité de Bénard* en est un autre exemple. Une couche horizontale de liquide, chauffée par en dessous, passe, au-delà d'un certain gradient critique de température, dans l'état de mouvement de convection interne en formant des structures coopératives ordonnées (fig. 9.5). L'effet est directement lié à la non-linéarité des équations de l'hydrodynamique. De façon analogue, les processus chimiques autocatalytiques, non linéaires, conduisent à l'apparition, dans le domaine situé au-delà du seuil thermodynamique, de structures dissipatives spatio-temporelles (chap. 16). Dans un système à l'équilibre l'ordre apparaît en conformité avec la condition de minimum d'énergie libre; dans un système dissipatif il résulte de l'amplification des fluctuations jusqu'à un niveau macroscopique. Le domaine de la physique qui étudie les systèmes dissipatifs et leur ordre est appelé *synergétique*. Ce domaine est en dehors de la thermodynamique; on y est obligé de considérer des modèles cinétiques concrets (chap. 15 à 17). Comme on le verra, ces modèles s'avèrent également efficaces, lorsqu'on les applique à l'étude du développement biologique: de la *phylogénèse* et de l'*ontogénèse* (chap. 17).

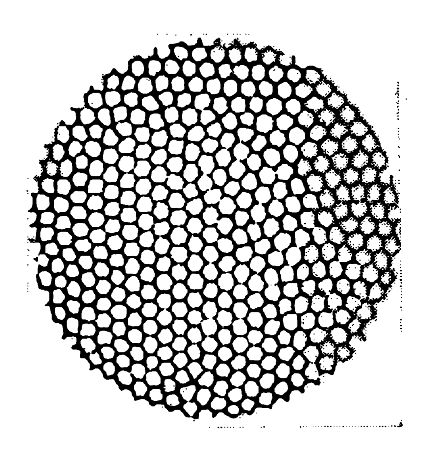


Fig. 9.5. Structures de Bénard

L'étude des systèmes dissipatifs est directement liée à l'élargis-

sement de la théorie de l'information. Il devient nécessaire de considérer non seulement la quantité d'information, la transmission des informations et leur recodage, mais aussi la réception de l'information qui n'est possible qu'en dehors de l'équilibre, en présence d'une instabilité. C'est dans cette voie que la notion d'« antientropicité » de la vie acquiert un sens physique (chap. 17).

Katchalsky et col. ont mis au point une nouvelle méthode d'obtention d'équations cinétiques et de leur analyse, méthode appelée *thermodynamique des réseaux* (*network thermodynamics*). C'est une théorie phénoménologique qui part de l'analogie entre le réseau électrique et un système dynamique quelconque : mécanique, thermodynamique ou chimique. L'algorithme utilise la théorie des graphes. La thermodynamique des réseaux permet d'étudier les systèmes non linéaires à liaisons directes et inverses composés d'éléments discrets.

CHAPITRE 10

PHYSIQUE DES MEMBRANES

§ 10.1. Membranes de la cellule

La Terre ne connaît pas de formes non cellulaires de la vie. Les virus et les bactériophages ne peuvent être considérés comme des systèmes vivants indépendants: de toutes les fonctions de la cellule vivante ils ne possèdent que la faculté de transmettre le programme génétique. Par contre, les caractéristiques principales de la vie sont inhérentes aussi bien aux organismes unicellulaires qu'à la plupart des types des cellules spécialisées des pluricellulaires. La structure et le comportement des cellules individuelles sont tellement complexes qu'il s'avère possible de formuler des problèmes de comportement au niveau cellulaire: c'est la *cyto-éthologie* (Aleksandrov, 1970).

L'édification de la biologie supramoléculaire débute par l'étude de la cellule vivante. La biophysique de la cellule tend à l'étudier en utilisant des modèles expérimentaux et théoriques qui permettent un traitement physique.

Les fonctions physiques et physico-chimiques essentielles de la cellule sont le métabolisme chimique et la biosynthèse, les processus bioénergétiques d'emmagasinage de l'énergie et de sa transformation par processus électro- et mécanochimiques et par transport contrôlé de molécules et d'ions. Comme nous l'avons vu (§ 2.6), l'énergie est surtout emmagasinée sous la forme de l'ATP: l'énergie chimique de l'ATP est transformée en travail chimique, électrique, osmotique et mécanique. Les fonctions biosynthétique et bioénergétique sont indissolublement liées entre elles; elles ne sont réalisables que dans un système ouvert hors d'équilibre. Corrélativement, ces fonctions sont couplées au transport de matière du milieu extérieur dans la cellule et de la cellule vers le milieu extérieur.

La combinaison du transport de matière avec le maintien et l'autonomie de la structure interne de la cellule est réalisée de la seule manière possible: pour pouvoir remplir ses fonctions, la cellule considérée comme un tout est séparée du milieu extérieur par une cloison semi-perméable. Chaque cellule est entourée de membrane plasmique. L'apparition de la membrane cellulaire a dû

être une étape importante dans la genèse de la vie: la *compartimentation*, séparation de l'espace intracellulaire du monde extérieur, déterminait une accélération décisive de l'évolution prébiologique et biologique (v. chap. 17).

D'autre part, la régulation fine des processus intracellulaires s'effectue en partant d'une séparation spatiale des organites cellulaires. Les membranes intracellulaires servent à compartimenter le contenu de la cellule.

Les membranes biologiques sont des systèmes supramoléculaires, dont l'étendue dans deux dimensions est de loin supérieure à l'épaisseur qui est de l'ordre de 10 nm. Mais c'est dans l'épaisseur de la membrane que sont localisés tous les mécanismes responsables de sa fonctionnalité biologique.

Les membranes ne sont pas des enveloppes semi-perméables passives: elles participent directement et pour une part très importante à toutes les fonctions de la cellule. Les membranes assurent le *transport actif* de la matière dans le sens opposé à celui du gradient de potentiel chimique ou électrochimique. Les membranes sont le siège des principaux processus bioénergétiques: *phosphorylation oxydative* et *photosynthèse*. L'ATP est synthétisé dans les membranes des *mitochondries* et dans les *membranes thylakoïdes* des *chloroplastes* des plantes vertes. On a de bonnes raisons pour établir un rapport entre les ribosomes, sur lesquels les protéines sont synthétisées, et le système membranaire du *réticulum endoplasmique*. Il paraît que les membranes interviennent dans la réplication des ADN et des chromosomes.

Les phénomènes bioélectriques — génération des *biopotentiels* — appartiennent aux processus bioénergétiques les plus importants. La propagation de l'influx nerveux est un processus membranaire. La réception — mécanique, acoustique, olfactive, gustative, visuelle — ne pourrait se produire sans l'intervention des membranes.

Tout ce que l'on vient de dire montre bien que la physique des membranes est un des domaines cruciaux de la biophysique. La physique et la biologie des membranes présentent un intérêt capital aussi bien pour la science théorique que pour ses applications en médecine et en pharmacologie.

Enumérons les problèmes principaux de la physique des membranes.

1. Structure des membranes, caractéristiques dynamiques de la structure membranaire qui déterminent sa fonctionnalité (§§ 10.2 et 10.3).
2. Transport membranaire passif et actif (§§ 10.4 à 10.6).
3. Propriétés des membranes excitables (chap. 11 et 12).
4. Bioénergétique des membranes (chap. 12 à 14).
5. Physique des processus de réception (§§ 11.7, 12.6, 14.6).

Le tableau présenté en conclusion de ce paragraphe regroupe les

Tableau 10.1

Evénements dans les membranes (Witt)

Photosynthèse	$\hbar\omega$	$\Delta\psi$	*i*	*e*	ATP (+ et —)
Respiration	—	$\Delta\psi$	*i*	*e*	ATP (+ et —)
Vision	$\hbar\omega$	$\Delta\psi$	*i*	—	ATP (—)
Nerfs	—	$\Delta\psi$	*i*	—	ATP (—)
Muscles	—	$\Delta\psi$	*i*	—	ATP (—)

événements les plus importants dans les membranes biologiques de types différents. Le quantum $\hbar\omega$ correspond aux événements liés aux quanta de lumière, $\Delta\psi$ est la variation du potentiel électrique, *i* l'apparition du courant électrique (ionique), *e* le transport d'électrons, ATP (+) la synthèse d'ATP, ATP (—) la dégradation de l'ATP.

§ 10.2. Structure des membranes

La membrane biologique est un système dynamique organisé; il s'agit donc d'étudier aussi bien sa structure que la dynamique de son comportement.

Les membranes sont principalement constituées de lipides et de protéines. Les cellules des mammifères contiennent aussi un peu de glucides liés aux protéines (glycoprotéides) ou aux lipides. Dans les membranes internes on trouve surtout des phospholipides, les membranes plasmiques renferment également des lipides neutres. Ainsi, la *cholestérine* représente 30 % des lipides des membranes des érythrocytes.

On isole les composants individuels des membranes à l'aide de *détergents* (tel le dodécylsulfate de sodium) qui solubilisent les substances insolubles, les protéines obtenues étant séparées par électrophorèse en gel de polyacrylamide.

Dans la plupart des cas les membranes sont très hétérogènes. On y trouve des familles entières de phospholipides et de lipides. Ainsi, les membranes des érythrocytes de l'homme renferment au moins 20 variétés de la lécithine. Les lipides sont constitués d'une « tête » polaire et de deux longues « queues » hydrocarbonées non polaires qui possèdent des propriétés hydrophobes.

Les protéines des membranes sont également bien diverses. Près d'un tiers des protéines de la membrane de l'érythrocyte est constitué par la spectrine qui renferme deux composants de masses moléculaires 255 000 et 220 000. Un autre tiers est une série de protéines d'une masse moléculaire de 90 000 environ et le troisième est représenté par des protéines de masse moléculaire 9 000 à 15 000.

Il existe des membranes d'une composition plus simple : les membranes internes des bâtonnets de la rétine ne contiennent qu'une seule protéine, la *rhodopsine* (v. § 14.7).

Encore en 1935 Danielli et Davson ont proposé leur *modèle unitaire* de la membrane biologique. La membrane unitaire est constituée par une double couche lipidique, les « queues » hydrophobes des lipides étant orientées vers l'intérieur de la membrane et leurs « têtes » se trouvant à la surface où elles entrent en interaction avec les couches protéiques monomoléculaires externes (fig. 10.1).

C'est la microscopie électronique qui fournit le gros de l'information sur la structure des cellules et des membranes cellulaires.

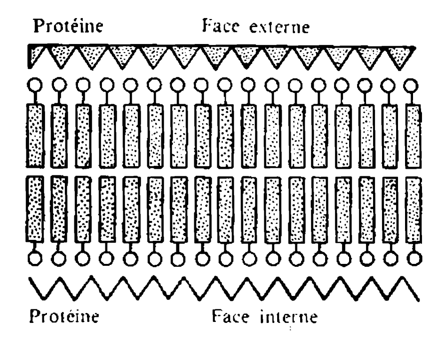


Fig. 10.1. Modèle de la membrane biologique. Les cercles représentent les « têtes » polaires, les rectangles les « queues » non polaires des lipides

Les ombrages nécessaires pour obtenir les clichés sont réalisés à l'aide de OsO_4, $KMnO_4$, etc. La chimie des processus qui se déroulent alors n'est pas encore tout à fait élucidée ; on ne sait pas non plus très bien ce qui se passe lors de l'extraction des membranes et de la préparation des échantillons. Les artefacts ne sont donc pas à exclure. Néanmoins, le principe de base de la structure d'une membrane unitaire, la disposition des lipides en double couche, est correct. Les résultats radiographiques le confirment également. En ce qui concerne les protéines, leur arrangement réel est autre que l'arrangement proposé dans le modèle unitaire symétrique, selon lequel les protéines membranaires auraient des surfaces hydrophiles interagissant avec les « têtes » polaires des lipides. On a étudié des protéines membranaires isolées et des membranes à l'aide de méthodes indirectes : par action d'enzymes protéolytiques et par introduction de différents marqueurs dans les protéines membranaires. On a pu ainsi diviser les protéines des membranes en deux classes. Les unes ne sont fixées que par les faces de la membrane ; de même que les protéines globulaires fonctionnant dans l'entourage aqueux, ces protéines membranaires ont une surface hydrophile. Les autres sont capables de pénétrer à l'intérieur de la membrane pour entrer en

interaction avec les « queues » hydrophobes des lipides. Ces protéines sont insolubles dans l'eau, leurs surfaces sont hydrophobes. L'étude des membranes par spectroscopie infrarouge, spectropolarimétrie, RMN, etc., met en évidence la diversité des structures protéiques et les interactions entre protéines, dont le modèle unitaire ne tient pas compte. Il a été établi que les protéines sont réparties dans les membranes d'une façon asymétrique (Bergelson, 1970).

Des résultats importants ont été obtenus par *cryodécapage* (freeze-etching). Les membranes sont rapidement gelées à la température de l'azote liquide et broyées sous vide. La glace étant sublimée,

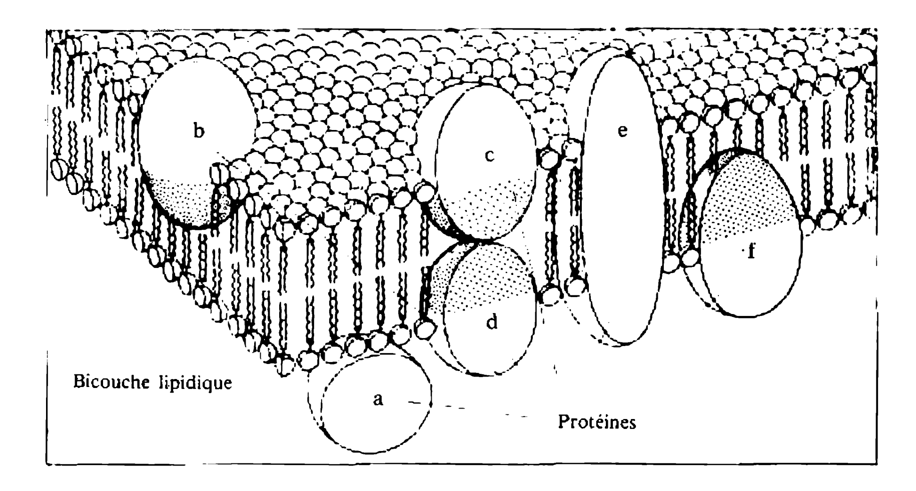


Fig. 10.2. Représentation actuelle de la structure de la membrane cellulaire: *a)-f)* sont des molécules protéiques différentes

l'échantillon est soumis à l'ombrage, répliqué au platine et au carbone et étudié au microscope électronique. Il se trouve que la cassure passe le long de la région hydrophobe interne de la membrane de l'érythrocyte. On y a détecté des particules globulaires d'un diamètre allant jusqu'à 7,5 nm. Ces particules sont des protéines.

Le modèle unitaire a subit plusieurs modifications. Actuellement c'est le *modèle de la mosaïque fluide* qui est considéré comme le plus satisfaisant (fig. 10.2). On y retrouve la bicouche lipidique. En effet, les *membranes lipidiques artificielles* ayant une structure en double couche se sont avérées analogues, sous plusieurs rapports, aux membranes biologiques. On prépare les membranes artificielles en mettant un mélange de phospholipides et de lipides neutres dissous dans des solvants organiques en contact avec l'eau. On peut alors obtenir des membranes « noires » qui sont des couches minces dépourvues de couleurs d'interférence, d'une épaisseur inférieure

à 10 nm. Il est établi que ces membranes ont la structure mentionnée en double couche. Le tableau 10.2 confronte les propriétés des membranes artificielles en double couche lipidique et des membranes biologiques.

Tableau 10.2

Comparaison des caractéristiques des membranes en bicouche lipidique et des membranes biologiques

Caractéristiques	Membranes biologiques à 25 °C	Membranes en bicouche à 36 °C
Epaisseur, nm	6 à 10	6,7 à 7,5
Capacité, pF/mm²	0,5 à 1,3	0,38 à 1,0
Résistance, ohm·cm²	10^2 à 10^5	10^6 à 10^9
Tension disruptive, mV	100	150 à 200
Tension superficielle, N/cm²	$0{,}03$ à $1{,}0 \cdot 10^{-5}$	$0{,}5$ à $2{,}0 \cdot 10^{-5}$
Perméabilité à l'eau, μm/s	0,37 à 400	31,7
Energie d'activation pour le transport d'eau, kJ/mol	40,3	53,3

Les membranes artificielles sont dépourvues d'activité métabolique et ne possèdent pas une sélectivité aussi élevée que celle des membranes biologiques. Cependant, elles simulent certaines propriétés importantes des biomembranes permettant l'étude du transport de matière et de l'excitabilité.

Il est établi que dans les systèmes lipides-eau il y a formation de structures cristoliquides d'une organisation complexe et variée, d'ordre étalé. Ces systèmes présentent un intérêt scientifique indépendant. On a des raisons pour croire que le caractère polyphasé des systèmes lipidiques est en rapport direct avec les fonctions des membranes biologiques (v. plus loin).

§ 10.3. Propriétés conformationnelles des membranes

Penchons-nous sur les caractéristiques dynamiques des membranes. Selon certaines données, la bicouche lipidique est très mobile. Les lipides membranaires se comportent à la façon des *cristaux liquides*. C'est dans le cristal liquide que l'on trouve la meilleure façon d'associer un ordre élevé à la fluidité et à la labilité. Cette association permet aux membranes de remplir leurs fonctions importantes.

Les propriétés cristoliquides (liquides) des membranes résultent du fait que leurs lipides s'y trouvent à l'état fondu à la température physiologique. La température de fusion d'un hydrocarbure est d'autant plus basse que le nombre de ses doubles liaisons est plus élevé (c'est en cela que consiste la différence entre les huiles anima-

les et végétales). Les lipides à doubles liaisons dans les chaînes hydrocarbonées fondent à des températures inférieures aux températures physiologiques. Le taux de ce type de lipides est élevé dans les membranes plasmiques des mammifères.

Un bon nombre de faits attestent les propriétés liquides des membranes. La mobilité de la structure membranaire est mise en évidence à l'aide des marqueurs paramagnétiques et fluorescents, ainsi que par RMN. La figure 10.3 représente le spectre de RPE d'une membrane marquée au moyen de sondes nitroxylées fixées sur les « queues » lipidiques. A basse température le lipide est gelé, tandis qu'à haute température le spectre devient plus pointu par suite de la fusion du lipide.

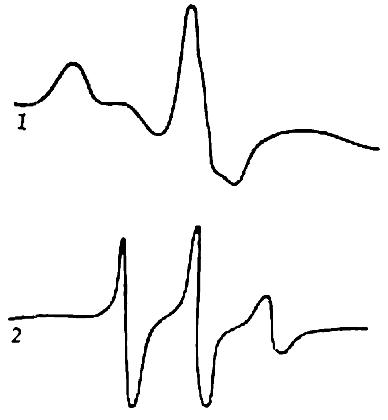


Fig. 10.3. Spectres de RPE d'une molécule de lipide dans la membrane, avec un marqueur de spin: 1 — basse température, 2 — haute température

Ce sont les propriétés cristoliquides des membranes photoréceptrices contenant la protéine rhodopsine (§ 14.7) que l'on connaît de la façon la plus détaillée. Cette membrane renferme une molécule de rhodopsine par 60 à 90 molécules de lipides, dont 80 % contiennent un acide gras non saturé. On a pu établir par la technique de photométrie à flash que la molécule de rhodopsine tourne rapidement autour de l'axe perpendiculaire au plan de la membrane. Le temps de cette diffusion de rotation est égal à 20 μs à 20 °C. L'étude microspectrophotométrique de la décoloration de la rhodopsine à la lumière montre qu'il se produit, dans la membrane, une diffusion latérale de translation de la rhodopsine. Le coefficient de diffusion vaut $(3{,}5 \pm 1{,}5)\cdot 10^{-9}$ $cm^2\cdot s^{-1}$, ce qui correspond à une viscosité comprise entre 0,1 et 0,4 P. La viscosité des membranes cellulaires des mammifères, déterminée en partant de la diffusion de translation, ainsi que celle des membranes des mitochondries et des axones nerveux, ont des valeurs voisines. Ainsi, la viscosité des membranes est supérieure de deux ou trois ordres de grandeur à celle de l'eau : elle correspond à la viscosité d'une huile végétale. Il existe également des membranes plus visqueuses.

L'organisation de la membrane, montrée sur la figure 10.2, est telle que les protéines « nagent » dans la « mer lipidique ». Leurs molécules sont immergées, sur les deux faces de la membrane, dans la double couche des « queues » hydrocarbonées mobiles des lipides. La profondeur de leur immersion est variable. Certaines protéines

traversent totalement la membrane. Une partie considérable de la surface membranaire est libre de protéines: ainsi, les protéines occupent 70 % de la surface membranaire de l'érythrocyte et 80 % de la surface membranaire du microsome.

Les membranes possèdent des *canaux* qui servent au transport des petits ions et molécules. Ces canaux qui se formeraient à proximité des molécules protéiques sont tapissés de groupements polaires. La nature des canaux est un des problèmes actuels de la physique des membranes (v. § 11.4).

Certains faits attestent l'existence de transitions conformationnelles dans les membranes. Les changements de structure sont détectés à l'aide de marqueurs fluorescents et paramagnétiques, par mesure de la biréfringence et de la diffusion de la lumière, ainsi qu'en utilisant la technique de dichroïsme circulaire. Dans les membranes on observe des transitions de phase: la fusion des lipides. Une telle transition se produit au voisinage de 0 °C, lorsque les membranes des mitochondries et des microsomes sont chauffées à partir de —40 °C. Les marqueurs de spin ont permis de déterminer les températures de séparation latérale de phases dans les lipides pour une suspension de membranes plasmiques isolées des fibroplastes d'une souris. Ces transitions sont observées à 15 et à 31 °C dans la monocouche lipidique extérieure et à 21 et 37 °C dans la monocouche intérieure.

La mobilité des lipides membranaires et les transitions de phase qu'ils présentent sont dues à leurs propriétés conformationnelles. La fusion des lipides se fait par isomérisation rotationnelle des chaînes hydrocarbonées; c'est une fusion conformationnelle. Les hydrocarbures saturés (paraffines) se cristallisent sous forme de rotamères *trans* continus (cf. p. 67). Au cours de la fusion des rotamères *gauches* repliés apparaissent à côté des rotamères *trans*. Dans les paraffines liquides leur proportion s'élève à près de 10 %. Cela est également valable pour les « queues » hydrocarbonées dans les lipides.

Sur la figure 10.4 on a représenté la variation, en fonction de la température, de la capacité calorifique et de l'enthalpie de la solution d'un lipide: la dipalmitoyl-α-lécithine. On y observe deux transitions de phase: à 34 °C et, particulièrement brusque, à 41 °C. Le diagramme radiographique présente des cercles de diffraction bien nets correspondant à une distance de 0,48 nm entre les chaînes, pour les températures inférieures à celle de transition. Lorsque la température est supérieure au point de transition, on observe un cercle de diffusion qui correspond à une distance entre chaînes égale à 0,53 nm.

On a édifié une méeanique statistique des membranes phospholipidiques en double couche qui prend en considération la rotamérisation et les contraintes stériques entre chaînes. Si l'on pose la différence d'énergies entre rotamères $\Delta E \approx 2{,}5$ kJ/mol (cf. p. 69), on obtient des valeurs de la variation d'enthalpie et d'entropie lors

de la fusion d'un lipide en double couche qui sont en accord avec les résultats expérimentaux.

Träuble (1971) a proposé une théorie du transport des molécules à travers la membrane lipidique fondée sur les mêmes conceptions relatives à la rotamérisation des chaînes hydrocarbonées. Les rotamères *gauches* y sont considérés comme des défauts structuraux mobiles, « *kinks* », qui déterminent l'existence de volumes libres dans la phase hydrocarbonée de la membrane. Le coefficient de diffusion des « kinks » est évalué à 10^{-5} $cm^2 \cdot s^{-1}$: c'est une diffusion rapide.

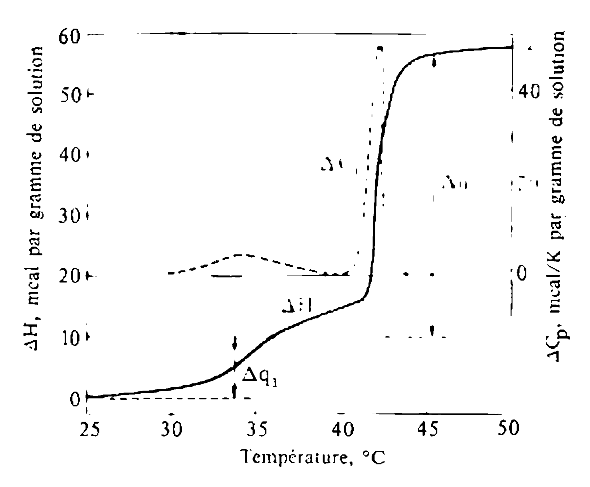


Fig. 10.4. Enthalpie et capacité calorifique d'une solution de dipalmitoyl-α-lécithine en fonction de la température (Δq_1 et Δq_2 sont les chaleurs des transitions de phase)

Le transport des petites molécules s'effectue du fait qu'elles pénètrent dans les volumes libres et migrent avec eux. Cette idée fournit le modèle des « canaux cinétiques » dans la membrane et permet de calculer sa perméabilité à l'eau en accord avec l'expérience.

Les changements conformationnels jouent un rôle important dans les interactions des membranes avec divers ligands, ce qui est essentiel pour la physiologie et la pharmacologie.

Les cas sont nombreux où les membranes cellulaires réagissent de façon coopérative à l'addition de ligands spécifiques. Les courbes représentant la réaction de la membrane et de la cellule à la concentration croissante du ligand ont souvent des inflexions (cf. p. 213).

Les souches dites colicinogènes des bactéries *Escherichia coli* produisent des antibiotiques macromoléculaires appelés *colicines* qui tuent les bactéries d'autres souches, « sensibles », de *E. coli.* Dans ce cas le nombre de molécules de colicines nécessaire pour tuer une bactérie peut être très petit: parfois une seule molécule

suffit. On en déduit que la membrane de la cellule sensible possède des propriétés d'amplification : la réception d'une molécule sert de *trigger* en provoquant des événements macroscopiques à l'échelle de la cellule.

Il faut croire que des processus « *trigger* » analogues ont lieu dans les membranes des cellules réceptrices (v. § 11.7).

On a établi que de nombreux médicaments influent sur les conformations des membranes et des lipides membranaires. Changeux et col. ont considéré la membrane en tant qu'un système coopératif ordonné constitué de sous-unités en interaction. Dans ces travaux les propriétés « trigger » de la membrane sont traitées sur la base d'une théorie analogue à la théorie de la coopérativité indirecte des enzymes, développée par Monod, Wyman et Changeux (v. § 6.7). Chaque sous-unité possède un centre de réception correspondant à un ligand spécifique donné, l'affinité pour ce ligand variant avec le changement de conformation de cette sous-unité. Dans le « réseau » ordonné de la membrane les sous-unités (protomères) interagissent avec leurs voisins, ce qui détermine les propriétés coopératives. Suivant l'activité du ligand et l'énergie d'interaction des protomères la réponse de la membrane à la fixation d'un ligand peut être graduelle ou en S, devenant à la limite une transition « tout ou rien » : transition de phase. Le modèle formel décrit l'action des colicines, fournit une explication qualitative d'une série de faits ; notamment, il explique pourquoi des médicaments apparentés mais différents provoquent des réponses maximales différentes de la membrane. L'action primaire de nombreux médicaments est localisée dans les membranes et présente un caractère coopératif. Certains médicaments agissent à très faible concentration (jusqu'à 10^{-11} M) avec une haute spécificité. L'effet d'un médicament sur le récepteur membranaire est déterminé par la reconnaissance moléculaire, mais on sait encore bien peu de choses sur la nature de ces récepteurs (v. § 11.7).

La plus grande difficulté dans l'édification de la théorie moléculaire du transport membranaire et de la réception réside dans l'analyse de l'interaction dynamique protéines-lipides. Les récepteurs membranaires qui sont, probablement, des protéines (cf. la rhodopsine dans les photorécepteurs), changent leur conformation après avoir fixé le ligand, ce qui fait varier la profondeur d'immersion et la mobilité des protéines dans la « mer lipidique ». La cause de la coopérativité réside, peut-être, dans l'interaction des protéines « flottantes » lors de leurs collisions. Le modèle dynamique en mosaïque peut servir de base à la physique moléculaire des membranes.

On peut croire que les propriétés des membranes sont déterminées pour une large part par les interactions électrono-conformationnelles (IEC, v. §§ 6.6, 13.4). Le déplacement local de la densité électronique dû à l'interaction du récepteur membranaire avec le ligand provoque des réorganisations conformationnelles des molé-

cules biologiques. Le transport des électrons et des ions à travers la membrane peut être interprété comme une propagation de *conformons*, quasi-particules conventionnelles constituées par des porteurs de charge électronique ou par un déplacement de la densité électronique et par des écarts conformationnels du milieu ambiant (v. pp. 212, 459, 462).

§ 10.4. Transport membranaire passif

Il est naturel d'aborder le problème du transport membranaire par son aspect thermodynamique, sans toucher à la structure moléculaire de la membrane et au mécanisme du transport. La thermodynamique est avant tout appelée non pas à expliquer les phénomènes physiques, mais à organiser nos connaissances en établissant des relations entre les phénomènes physiques, ainsi que leur dépendance des paramètres du système.

Dans le cas considéré la thermodynamique met en évidence la dépendance des flux de transport avec les caractéristiques moyennes des solutions et de la membrane.

Nous considérons le modèle élémentaire: une membrane homogène en contact avec deux solutions (fig. 10.5). La fonction de dissipation à l'intérieur de l'élément dx de la membrane s'écrira

$$T\sigma = \sum_i J_i \nabla(-\mu_i), \qquad (10.1)$$

Fig. 10.5. Modèle élémentaire du transport membranaire

où J_i est le flux vectoriel de l'i-ème substance à travers la membrane et μ_i le potentiel chimique. Après avoir intégré cette expression par rapport à l'épaisseur de la membrane, on a

$$\Psi = \int_0^{\Delta x} \sigma T\, dx = \sum_i J_i\,[\mu_i(0) - \mu_i(\Delta x)] = \sum_i J_i\,\Delta\mu_i. \qquad (10.2)$$

S'il y a un seul soluté (s) et un seul solvant (eau, w), il vient

$$\Psi = J_s\Delta\mu_s + J_w\Delta\mu_w. \qquad (10.3)$$

Le calcul montre que cette fonction de dissipation intégrée peut être récrite sous la forme

$$\Psi = J_V\Delta p + J_D\Delta\pi, \qquad (10.4)$$

où Δp est la différence de pression de part et d'autre de la membrane, $\Delta\pi$ la différence de pressions osmotiques, J_V le flux volumique total:

$$J_V = J_s V_s + J_w V_w; \qquad (10.5)$$

V_s et V_w sont les volumes molaires partiels, J_D est le flux de soluté par rapport à l'eau:

$$J_D \approx v_s - v_w; \qquad (10.6)$$

v_s et v_w sont les vitesses de transport à travers la membrane. Lorsqu'on a un grand excès de solvant,

$$J_V \approx v_w. \qquad (10.7)$$

On a ainsi passé aux flux généralisés J_V, J_D et aux forces généralisées Δp, $\Delta\pi$. Au voisinage de l'équilibre on a (v. § 9.3) :

$$\begin{aligned} J_V &= L_p\Delta p + L_{pD}\Delta\pi, \\ J_D &= L_{pD}\Delta p + L_D\Delta\pi. \end{aligned} \tag{10.8}$$

Les flux J_V, J_D sont couplés. Le coefficient L_p caractérise la *capacité de filtration mécanique* de la membrane : c'est la vitesse du liquide par unité de différence de pressions ; L_D exprime la vitesse du liquide par unité de différence de pressions osmotiques ; $L_{pD} = (J_V)_{\Delta p=0}/\Delta\pi$ est le *coefficient d'écoulement osmotique*. Pour la membrane semi-perméable parfaite ne laissant pas passer le soluté, $J_s = 0$ et $J_V = -J_D$. D'où

$$(L_p + L_{pD})\ \Delta p + (L_{pD} + L_D)\ \Delta\pi = 0$$

et

$$-L_{pD} = L_p = L_D, \quad \Delta\pi = \Delta p.$$

Dans le cas d'une membrane imparfaite la mesure de sa *sélectivité* est

$$\varkappa = -\frac{L_{pD}}{L_p} = -\left(\frac{J_D}{J_V}\right)_{\Delta\pi=0} = \left(\frac{v_W - v_S}{v_W}\right) < 1 \tag{10.9}$$

ou bien

$$\varkappa = \left(\frac{\Delta p}{\Delta\pi}\right)_{J_V=0}; \tag{10.10}$$

$\varkappa$ est appelé *coefficient de réflexion*. Pour la membrane de l'érythrocyte de l'homme $\varkappa = 0{,}62$ par rapport à l'urée.

Les coefficients phénoménologiques L_p, L_D et L_{pD} peuvent être exprimés par les coefficients de frottement de l'eau et du soluté contre la membrane et du soluté contre l'eau.

Si le soluté est constitué d'ions chargés (la biologie s'intéresse surtout aux ions K^+, Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}), à la place du potentiel chimique on considérera le *potentiel électrochimique*

$$\tilde{\mu}_i = \mu_i + z_i\mathscr{F}\psi, \tag{10.11}$$

où ψ est le potentiel électrique de la membrane, z_i la valence de la particule chargée, $\mathscr{F}$ le nombre de Faraday. Lorsque deux solutions, 1 et 2, séparées par une membrane, sont en équilibre, leurs potentiels électrochimiques sont égaux

$$\tilde{\mu}_i^{(1)} = \tilde{\mu}_i^{(2)} \tag{10.12}$$

ou

$$\Delta\mu_i = RT\ \ln\frac{a_i^{(1)}}{a_i^{(2)}} = -z_i\mathscr{F}\Delta\psi, \tag{10.13}$$

$a_i^{(1)}$ et $a_i^{(2)}$ étant les activités, remplacées, dans le cas des solutions idéales, par les concentrations $c_i^{(1)}$, $c_i^{(2)}$.

La thermodynamique phénoménologique du non-équilibre pour le *transport ionique passif* est édifiée par analogie avec la description du transport des molécules neutres. Les coefficients phénoménologiques s'expriment également à l'aide des coefficients de frottement.

Dans ce cas la situation est plus compliquée, car le nombre de ces coefficients est élevé: ainsi, il y en a six pour la solution de NaCl dans l'eau. Le calcul se simplifie, lorsque la membrane possède une forte charge, ce qui fait que la concentration en contre-ions fixés devient de loin supérieure à la concentration en sel neutre dans la membrane.

La thermodynamique du non-équilibre fournit une description physiquement argumentée du transport passif. Elle définit les caractéristiques cinétiques de la membrane (telles que $\varkappa$) que l'on peut mesurer expérimentalement. Il est évident que l'interprétation de la perméabilité des membranes suppose l'étude de l'écoulement

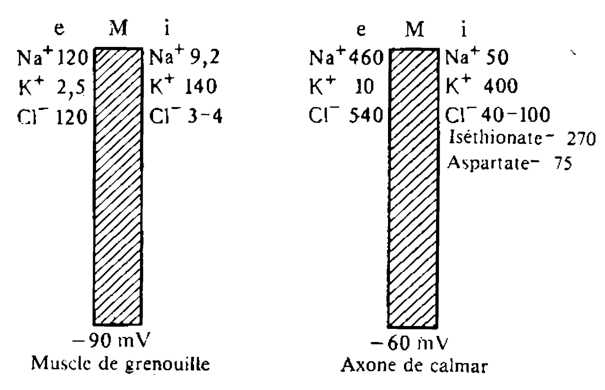


Fig. 10.6. Concentration d'ions (mmol/l) et différences de potentiel entre deux faces de la membrane cellulaire

non équilibré de la matière. On lie la dynamique du transport aux propriétés de la membrane. Selon des résultats expérimentaux relatifs à une série de membranes passives artificielles et biologiques, cet écoulement est lié aux forces généralisées (gradients de μ et de $\tilde{\mu}$) par une relation linéaire: cela veut dire que les processus couplés considérés sont proches de l'équilibre.

Passons maintenant au niveau moléculaire.

Les cellules vivantes sont caractérisées par le fait que leur concentration interne en ions K^+ peut être 10 à 20 fois plus élevée que dans le milieu extérieur. Pour les ions Na^+ on observe des gradients du même ordre, mais de sens opposé. Des expériences avec des traceurs atomiques montrent que les ions du cytoplasme présentent un échange avec les ions du milieu extérieur: la membrane cellulaire est perméable à K^+ et Na^+. Le fait que les concentrations d'ions présentent des gradients explique la différence de potentiel de l'ordre de 50 à 70 mV, observée expérimentalement, qui existe entre le cytoplasme et le milieu extérieur. Ces relations sont montrées sur la figure 10.6 pour le muscle de la grenouille et l'axone du calmar.

Pourquoi les ions Na^+ sont-ils expulsés de la cellule, alors que les K^+ y restent en excès? C'est un problème évolutif. Les premières cellules apparurent, probablement, dans l'eau de mer (v. § 17.1) et la composition du milieu intercellulaire, tel le plasma sanguin, est voisine de celle de l'eau de mer. Si le potentiel électrochimique sur la membrane cellulaire, nécessaire pour une série de fonctions biologiques, était créé par un excès de Na^+ dans la cellule, il faudrait que la concentration en Na^+ à l'intérieur de la cellule soit de l'ordre de plusieurs moles par litre. Par contre, le milieu (l'eau de mer) est tellement pauvre en K^+ qu'une concentration intracellulaire inférieure d'un ordre de grandeur suffit pour créer le potentiel requis.

Selon des expériences, les ions K^+ et Na^+ se déplacent d'une façon pratiquement libre dans l'axoplasme. Les gradients de leurs concentrations ne sont donc pas dus aux propriétés du cytoplasme, mais à des caractéristiques spécifiques de la membrane. Le potentiel de repos (différence de potentiel pour une membrane non excitée) caractérise un certain processus stationnaire hors d'équilibre.

Considérons d'abord l'équilibre ionique entre deux solutions séparées par une membrane. Pour une solution de NaCl on a

$$\mu_{Na}^i + \mu_{Cl}^i = \mu_{Na}^e + \mu_{Cl}^e$$

(i étant la face interne et e la face externe de la membrane), soit

$$\Delta\mu_{Na} = \mu_{Na}^e - \mu_{Na}^i = -(\mu_{Cl}^e - \mu_{Cl}^i) = -\Delta\mu_{Cl}.$$

Comme $\Delta\mu$ dépend logarithmiquement du rapport d'activités (cf. (10.13)), il vient

$$\frac{a_{Na}^i}{a_{Na}^e} = \frac{a_{Cl}^e}{a_{Cl}^i}. \qquad (10.14)$$

C'est l'*équilibre de Donnan*. Le rapport d'activités peut être remplacé, de façon approchée, par le rapport de concentrations.

Si la perméabilité de la membrane à ces deux ions ne dépend que de leur mobilité, la différence de concentration de part et d'autre de la membrane crée un potentiel de diffusion qui est dû au fait que les ions Cl^- sont plus mobiles que les ions Na^+. Une solution plus diluée sera donc électronégative par rapport à une solution plus concentrée. La différence de potentiel s'écrit (cf. (10.13))

$$\Delta\psi = \frac{RT}{\mathscr{F}} \frac{u_{Na} - u_{Cl}}{u_{Na} + u_{Cl}} \ln \frac{c_1}{c_2}, \qquad (10.15)$$

où $u_{Na} = 5{,}2$, $u_{Cl} = 7{,}9$ (µm/s) (cm/V) sont les mobilités des ions. Si le rapport des concentrations de part et d'autre de la membrane $c_1/c_2 = 10$, $\Delta\psi = -12$ mV. Si la membrane n'est perméable qu'à Na^+, $u_{Cl} = 0$ et on obtient l'*équation de Nernst* qui coïncide avec

(10.13):

$$\Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{c_1}{c_2}. \tag{10.16}$$

Lorsque $c_1/c_2 = 10$, la différence de potentiel $\Delta\psi = 60$ mV.

En biologie on a affaire à un système plus complexe: on doit tenir compte de la présence d'au moins trois variétés d'ions: K^+, Na^+, Cl^-.

En posant le champ électrique constant et homogène dans toute l'épaisseur de la membrane, Hodgkin et Katz (1949) ont déduit la formule pour $\Delta\psi$, potentiel de repos, considéré comme un potentiel de diffusion. Les courants d'ions monovalents traversant la membrane s'écrivent

$$\begin{aligned} I_K &= -RTu_K \frac{dc_K}{dx} - c_K u_K \mathcal{F} \frac{d\psi}{dx}, \\ I_{Na} &= -RTu_{Na} \frac{dc_{Na}}{dx} - c_{Na} u_{Na} \mathcal{F} \frac{d\psi}{dx}, \\ I_{Cl} &= RTu_{Cl} \frac{dc_{Cl}}{dx} - c_{Cl} u_{Cl} \mathcal{F} \frac{d\psi}{dx}. \end{aligned} \tag{10.17}$$

Pour un champ homogène et une membrane homogène,

$$\frac{d\psi}{dx} = -\frac{\Delta\psi}{\Delta x}, \tag{10.18}$$

Δx étant l'épaisseur de la membrane. En substituant (10.18) dans la première équation (10.17) et en intégrant de c_K^i à c_K^e, on a

$$I_K = \frac{u_K \mathcal{F} \Delta\psi}{\Delta x} \frac{c_K^e - c_K^i \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)}. \tag{10.19}$$

Le coefficient de perméabilité de la membrane aux ions K^+

$$P_K = \frac{u_K RT}{\Delta x \mathcal{F}}. \tag{10.20}$$

Comme il découle de (10.19) et (10.20),

$$I_K = \frac{P_K \mathcal{F}^2 \Delta\psi}{RT} \frac{c_K^e - c_K^i \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)}. \tag{10.21}$$

Le courant total est égal à la somme de trois courants I_K, I_{Na}, I_{Cl}:

$$I = \frac{P_K \Delta\psi \mathcal{F}^2}{RT} \frac{w - y \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)}, \tag{10.22}$$

où

$$\begin{aligned} w &= c_K^e + \frac{P_{Na}}{P_K} c_{Na}^e + \frac{P_{Cl}}{P_K} c_{Cl}^i, \\ y &= c_K^i + \frac{P_{Na}}{P_K} c_{Na}^i + \frac{P_{Cl}}{P_K} c_{Cl}^e. \end{aligned}$$

Pour un courant ionique I très petit (une grande résistance de la membrane), $I \approx 0$, $w \approx y \exp(-\mathcal{F}\Delta\psi/RT)$, d'où

$$\Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{y}{w},$$

ou

$$\Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{P_K c_K^i + P_{Na} c_{Na}^i + P_{Cl} c_{Cl}^e}{P_K c_K^e + P_{Na} c_{Na}^e + P_{Cl} c_{Cl}^i}. \qquad (10.23)$$

Nous avons obtenu la *formule de Hodgkin-Katz*. Elle est en bon accord avec l'expérience pour les valeurs élevées de c_K^e ou les petites valeurs de c_K^i. Lorsque c_K^e diminue ou c_K^i augmente, la quantité $\Delta\psi$ tend vers une limite. Le produit $P_K c_K^i$ se comporte comme une constante; l'accroissement du potentiel de repos $\Delta\psi$ fait diminuer le coefficient de perméabilité P_K. Pour expliquer ces faits, on a construit des modèles théoriques qui tiennent compte de la nécessité de franchir les barrières d'activation pour les ions traversant la membrane. Nous en reparlerons aux §§ 10.6 et 11.3.

§ 10.5. Transport membranaire actif

La concentration élevée en ions K^+ et la petite concentration en ions Na^+ à l'intérieur de la cellule sont déterminées par le transport membranaire actif qui se produit en sens inverse de la chute du potentiel électrochimique.

Le transport actif est une des caractéristiques les plus importantes des processus vitaux. Il lève la contradiction entre la conservation de l'hétérogénéité spatiale et le métabolisme : échange de matière et d'énergie avec le milieu environnant.

Le transport actif résulte du couplage des flux de diffusion avec les réactions exergoniques se déroulant dans l'épaisseur de la membrane. Le transport de matière est réalisé avec l'énergie libre dégagée dans les réactions chimiques. En règle générale, c'est l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP. Le couplage de ces deux processus n'est pas trivial. Comme nous l'avons indiqué plus haut (v. p. 323), les coefficients de couplage des flux scalaires et vectoriels sont nuls dans un système isotrope, en conformité avec le principe de Curie. Le couplage de réactions chimiques avec la diffusion peut être indirect, s'il résulte du maintien de l'état stationnaire (p. 334). D'autre part, il existe également un couplage direct dû à l'anisotropie de la membrane. Il y a enfin ce qu'on appelle *transport facilité* par une réaction chimique (facilitated transport). Dans ce dernier cas le transport est accéléré grâce à la présence dans la membrane d'un *carrier* : corps qui entre en interaction avec les ions ou les molécules transportés. Les ions ou les molécules forment un complexe avec le

carrier sur la face externe de la membrane. Ce complexe se décompose sur la face interne. Ni le carrier (C), ni son complexe avec la substance à transporter (S) ne quittent la membrane. A l'intérieur de la membrane on voit se dérouler la réaction

$$S + C \rightleftarrows CS.$$

Le flux du réactif S passe à travers la membrane. Selon la condition de stationnarité, le flux du carrier dans la membrane J_C est compensé par le flux opposé du complexe J_{CS}:

$$J_C + J_{CS} = 0,$$

i. e. il y a circulation de C.

Considérons à ce propos la *pompe à sodium*: le dispositif se trouvant dans la membrane cellulaire (en particulier, dans la membrane de la cellule nerveuse) qui utilise l'énergie libre de l'ATP pour le transport actif des ions Na^+ et K^+ dans les sens de leurs concentrations croissantes. A la base de ce dispositif on trouve l'enzyme ATP-*ase* K, Na-*activée*. Décrivons la pompe à sodium en termes de carriers qui peuvent être phosphorylés et déphosphorylés en divers endroits de la membrane:

$$C + ATP \rightarrow CP + ADP.$$

Supposons que l'ATP et l'ADP ne réagissent que sur la face interne de la membrane. Le carrier phosphorylé CP sera déphosphorylé par une transformation conformationnelle

$$CP \xrightarrow{H_2O} C + P.$$

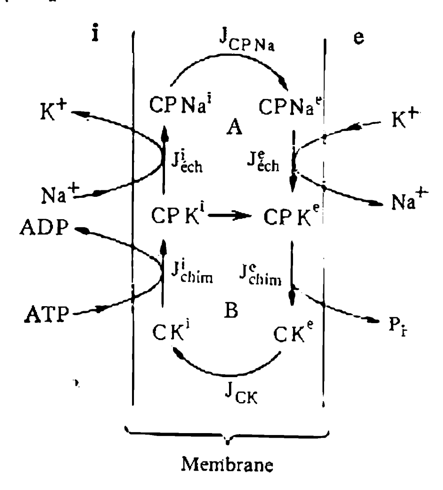


Fig. 10.7. Schéma thermodynamique de la pompe à sodium.

Les indices *i* et *e* correspondent aux faces interne et externe de la membrane; *A* est le cycle d'échange d'ions, *B* le cycle chimique

Admettons que le carrier C est une protéine ayant une grande affinité chimique pour K^+ et CP une protéine fixant de préférence Na^+. La pompe à sodium fonctionne comme un système de deux cycles, dans lequel un des cycles met en mouvement l'autre (fig. 10.7). Le premier cycle agit par échange d'ions:

$$CPK + Na^+ \rightleftarrows CPNa + K^+.$$

Le second cycle est chimique, on y est en présence de réactions de phosphorylation et de déphosphorylation.

A l'état stationnaire

$$\frac{d\mathrm{CK}^i}{dt} = -J^i_{\mathrm{chim}} + J_{\mathrm{CK}} = 0, \qquad \frac{d\mathrm{CK}^e}{dt} = J^e_{\mathrm{chim}} - J_{\mathrm{CK}} = 0,$$

soit

$$J^e_{\mathrm{chim}} = J^i_{\mathrm{chim}} = J_{\mathrm{CK}}. \tag{10.24}$$

Pour le cycle chimique on obtient

$$\frac{d\mathrm{CPNa}^i}{dt} = J^i_{\text{éch}} - J_{\mathrm{CPNa}} = 0, \qquad \frac{d\mathrm{CPNa}^e}{dt} = J_{\mathrm{CPNa}} - J^e_{\text{éch}} = 0,$$

soit

$$J^i_{\text{éch}} = J^e_{\text{éch}} = J_{\mathrm{CPNa}} \tag{10.25}$$

et

$$\begin{aligned} \frac{d\mathrm{CPK}^i}{dt} &= J^i_{\mathrm{chim}} - J^i_{\text{éch}} - J_{\mathrm{CPK}} = 0, \\ \frac{d\mathrm{CPK}^e}{dt} &= J_{\mathrm{CPK}} + J^e_{\text{éch}} - J^e_{\mathrm{chim}} = 0, \end{aligned} \tag{10.26}$$

i.e.

$$J_{\mathrm{CPK}} = J^i_{\mathrm{chim}} - J^i_{\text{éch}} = J^e_{\mathrm{chim}} - J^e_{\text{éch}}. \tag{10.27}$$

La fonction de dissipation a la forme

$$\begin{aligned} T\sigma = J_{\mathrm{CK}}\,\Delta\mu_{\mathrm{CK}} + J^i_{\mathrm{chim}}\,\mathcal{A}^i_{\mathrm{chim}} + J^e_{\mathrm{chim}}\cdot\mathcal{A}^e_{\mathrm{chim}} + J_{\mathrm{CPK}}\,\Delta\mu_{\mathrm{CPK}} + \\ + J_{\mathrm{CPNa}}\,\Delta\mu_{\mathrm{CPNa}} + J^i_{\text{éch}}\cdot\mathcal{A}^i_{\text{éch}} + J^e_{\text{éch}}\mathcal{A}^e_{\text{éch}} \end{aligned} \tag{10.28}$$

où

$$\Delta\mu_{\mathrm{CK}} = \mu^e_{\mathrm{CK}} - \mu^i_{\mathrm{CK}}, \quad \Delta\mu_{\mathrm{CPK}} = \mu^e_{\mathrm{CPK}} - \mu^i_{\mathrm{CPK}}$$

$$\Delta\mu_{\mathrm{CPNa}} = \mu^i_{\mathrm{CPNa}} - \mu^e_{\mathrm{CPNa}},$$

$$\begin{aligned} \mathcal{A}^i_{\mathrm{chim}} &= \mu_{\mathrm{ATP}} + \mu^i_{\mathrm{CK}} - \mu_{\mathrm{ADP}} - \mu^i_{\mathrm{CPK}}, \\ \mathcal{A}^e_{\mathrm{chim}} &= \mu^e_{\mathrm{CPK}} + \mu_{\mathrm{H_2O}} - \mu^e_{\mathrm{CK}} - \mu_{\mathrm{P}} \\ \mathcal{A}^i_{\text{éch}} &= \mu^i_{\mathrm{CPK}} + \mu^i_{\mathrm{Na}} - \mu^i_{\mathrm{CPNa}} - \mu^i_{\mathrm{K}}, \\ \mathcal{A}^e_{\text{éch}} &= \mu^e_{\mathrm{CPNa}} + \mu^e_{\mathrm{K}} - \mu^e_{\mathrm{CPK}} - \mu^e_{\mathrm{Na}} \end{aligned}$$

Par conséquent,

$$\begin{aligned} \sigma = J_{\mathrm{chim}}(\mu_{\mathrm{ATP}} + \mu_{\mathrm{H_2O}} - \mu_{\mathrm{ADP}} - \mu_{\mathrm{P}}) + \\ + J_{\text{éch}}[(\mu^i_{\mathrm{Na}} - \mu^e_{\mathrm{Na}}) - (\mu^i_{\mathrm{K}} - \mu^e_{\mathrm{K}})] = J_{\mathrm{chim}}\,\mathcal{A}_{\mathrm{chim}} + J_{\text{éch}}\cdot\mathcal{A}_{\text{éch}}. \end{aligned} \tag{10.29}$$

Le coefficient d'échange ionique

$$\Gamma = \frac{[\mathrm{K}^i]\,[\mathrm{Na}^e]}{[\mathrm{K}^e]\,[\mathrm{Na}^i]}. \tag{10.30}$$

Les relations phénoménologiques sont de la forme

$$\begin{aligned} J_{\text{éch}} &= L_{11}\mathcal{A}_{\text{éch}} + L_{12}\mathcal{A}_{\mathrm{chim}}, \\ J_{\mathrm{chim}} &= L_{12}\mathcal{A}_{\text{éch}} + L_{22}\mathcal{A}_{\mathrm{chim}}. \end{aligned} \tag{10.31}$$

Lorsque $L_{12} \neq 0$ et $\mathcal{A}_{\text{éch}} \neq 0$, alors, de même que pour $J_{\text{éch}} = 0$,

$$\mathcal{A}_{\text{éch}} = -RT \ln \Gamma = -\frac{L_{12}}{L_{11}} \mathcal{A}_{\text{chim}},$$

Γ différant de l'unité et L_{11}, $L_{22} > 0$. Dans le cas des érythrocytes

$$\Gamma = \exp\left(\frac{L_{12}}{L_{11}} \frac{\mathcal{A}_{\text{chim}}}{RT}\right) \approx 220.$$

Ainsi, le fonctionnement de la pompe à sodium est maintenu par le couplage de deux cycles: d'échange d'ions et chimique.

Selon la description phénoménologique, le fonctionnement de la pompe à sodium est possible au voisinage de l'équilibre: dans les conditions de linéarité.

Passons au niveau moléculaire. Comme nous l'avons déjà mentionné, c'est l'ATP qui fournit l'énergie libre pour le transport actif. L'ATP intensifie le transport actif étant introduit à l'intérieur de la cellule et reste sans effet, s'il se trouve dans le milieu extérieur. On a pu isolé de membranes cellulaires une ATP-ase K, Na-activée. Cet enzyme ne détruit l'ATP qu'en présence d'ions K^+ et Na^+. L'action de l'ATP dans la membrane est en liaison directe avec le transport actif: le glucoside ouabaïne inhibe l'ATP-ase à la concentration, à laquelle il arrête, également, le fonctionnement de la pompe à sodium. L'hydrolyse de l'ATP conduite *in vitro* avec cette ATP-ase se déroule en deux étapes. D'abord il y a libération d'ADP, le phosphate inorganique restant lié à l'enzyme. Cette étape est activée par les ions Na^+. La seconde étape qui nécessite l'intervention des ions K^+ consiste à détacher le phosphate de l'enzyme. La pompe présente une asymétrie analogue, mais spatiale: sur la face interne de la membrane son activité dépend de c^i_{Na} et sur la face externe de c^e_K. Lorsque l'ATP est hydrolysé sur les membranes, on voit le phosphate marqué passer de l'ATP dans les phosphoprotéides de la membrane. La cinétique de l'action de l'ATP-ase *in vitro* se caractérise par le fait que la vitesse de réaction est liée aux concentrations de Na^+, K^+ et de l'ATP par une relation en S. L'hydrolyse d'une molécule d'ATP dans la membrane fait que la cellule libère 2 ou 3 ions Na^+.

L'ATP-ase K, Na-activée est une protéine tétramère d'une masse moléculaire voisine de 250 000. La protéine comporte deux types de sous-unités: α (M. M. 84 000) et β (M. M. 57 000); il y en a deux de chaque variété. Seule la sous-unité α fixe le marqueur phosphate d'un ATP marqué. En partant de ces faits on a proposé un modèle du transport actif, selon lequel ce dernier serait le résultat des transformations conformationnelles de l'ATP-ase. Le changement de conformation provoque des variations de l'affinité pour les cations des centres actifs correspondants. Dans une de ces conforma-

tions la sous-unité α fixe Na^+ et la sous-unité β K^+; dans l'autre c'est le contraire qui se produit. La transformation de la conformation s'accompagne de l'hydrolyse de l'ATP, le phosphate détaché se fixe tout d'abord sur la sous-unité α. Ici on retrouve les interactions électrono-conformationnelles (v. p. 209).

Examinons le modèle cinétique du processus. Soient deux types de sites actifs capables de fixer et d'échanger Na^+ et K^+. Les sites du premier type ne sont pas spécifiques, ils participent au transport passif. Les sites du second type appartiennent à l'ATP-ase et assurent le transport actif.

Fig. 10.8. Couplage des flux ioniques dans la membrane avec la réaction chimique (Y — phosphate)

L'enzyme (E) catalyse l'hydrolyse de l'ATP. Nous symboliserons l'ATP par la lettre X, l'ADP (et l'AMP) par Z, le phosphate par P. L'équation suivante exprime la relation entre la réaction d'échange d'ions et la réaction enzymatique:

$$\mathrm{Na}^i+\mathrm{E}^i\cdot\mathrm{K}+\mathrm{X} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} \mathrm{E}^i\cdot\mathrm{Na}\cdot\mathrm{P}+\mathrm{Z}+\mathrm{K}^i.$$

L'indice i se rapporte toujours à la face interne et l'indice e à la face externe de la membrane. Sur la face externe on a

$$\mathrm{K}^e+\mathrm{E}^e\cdot\mathrm{Na}\cdot\mathrm{P} \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} \mathrm{E}^e\cdot\mathrm{K}+\mathrm{P}+\mathrm{Na}^e.$$

Le complexe Na·P qui se décompose sur la face externe de la membrane se déplace en sa direction depuis le site de sa formation en suivant le gradient de concentration. Si les sites d'échange possèdent une grande affinité pour les ions et que les sites libres soient absents, le déplacement du complexe Na·P et l'échange contre K peuvent être représentés sous la forme d'une réaction d'échange:

$$\mathrm{E}^i\cdot\mathrm{Na}\cdot\mathrm{P}+\mathrm{E}^e\cdot\mathrm{K} \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} \mathrm{E}^i\cdot\mathrm{K}+\mathrm{E}^e\cdot\mathrm{Na}\cdot\mathrm{P}.$$

Ainsi, la force généralisée qui déplace les ions est la différence de potentiels chimiques du produit Z, qui est maintenue par la réaction enzymatique.

Supposons encore que l'échange d'ions sur les sites actifs et la réaction enzymatique sont coopératifs: les sites sont en interaction les uns avec les autres. Un tel échange coopératif est observé, par exemple, dans les zéolithes, où il est déterminé par le changement de la structure du réseau par suite de l'échange d'ions. Nous introduirons donc dans l'équation des réactions les coefficients stœchiométriques ρ, ν, $\varkappa$ non égaux à 1.

Le schéma général des réactions est de la forme ($\mathrm{Y} \equiv \mathrm{P}$)

$$\begin{array}{ccccc}
\rho\,\mathrm{Na}^i & +\ \mathrm{E}^i\cdot\mathrm{K}_\nu+\varkappa\mathrm{X} & \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} & \mathrm{E}^i\cdot\mathrm{Na}_\rho\cdot\mathrm{Y}_\varkappa & +\ \nu\mathrm{K}^i+\varkappa\mathrm{Z} \\
J_{\mathrm{Na}}\uparrow\downarrow & k_{-3}\uparrow\downarrow k_3 & & k_3\uparrow\downarrow k_{-3} & \uparrow\downarrow J_{\mathrm{K}} \\
\rho\mathrm{Na}^e & +\ \mathrm{E}^e\cdot\mathrm{K}_\nu+\varkappa\mathrm{Y} & \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} & \mathrm{E}^e\cdot\mathrm{Na}_\rho\cdot\mathrm{Y}_\varkappa & +\ \nu\mathrm{K}^e
\end{array}$$

Ici J_{Na} et J_K sont les flux passifs. Le couplage des flux est représenté sur la figure 10.8. Les équations cinétiques des réactions ont la forme

$$
\begin{aligned}
s^{-1}\dot{c}_X &= -k_1 (c^i_{Na})^\rho (c_X)^\varkappa n^i_K + k_{-1} (c^i_K)^\nu (c_Z)^\varkappa n^i_{Na},\\
s^{-1}\dot{c}^i_{Na} &= -k_1 (c^i_{Na})^\rho (c_X)^\varkappa n^i_K + k_{-1} (c^i_K)^\nu (c_Z)^\varkappa n^i_{Na} + J_{Na},\\
s^{-1}\dot{c}^e_{Na} &= k_2 (c^e_K)^\nu n^{Na}_e - k_{-2} (c^e_{Na})^\rho (c_Y)^\varkappa n^e_K - J_{Na},\\
s^{-1}\dot{c}^i_K &= k_1 (c^i_{Na})^\rho (c_X)^\varkappa n^i_K - k_{-1} (c^i_K)^\nu (c_Z)^\varkappa n^i_{Na} + J_K,\\
\dot{n}^i_K &= -k_1 (c^i_{Na})^\rho (c_X)^\varkappa n^i_K + k_{-1} (c^i_K)^\nu (c_Z)^\varkappa n^i_{Na} + sk_3 n^i_{Na} n^e_K + sk_{-3} n^i_K n^e_{Na}.
\end{aligned}
\tag{10.32}
$$

Ici c^i, c^e sont les concentrations ioniques sans dimension à l'intérieur et en dehors de la cellule, rapportées aux concentrations molaires de l'eau dans les volumes correspondants $c^i_{H_2O}$, $c^e_{H_2O}$; n^i_K, n^e_K sont les nombres de sites d'échange de l'enzyme occupés par des ions par unité d'aire des faces interne et externe de la membrane, s est l'aire de la membrane. Parallèlement, on a

$$n^i_K + n^i_{Na} = n^i, \quad n^e_K + n^e_{Na} = n^e, \tag{10.33}$$

$$
\begin{aligned}
sn^i_K + sn^e_K + c^i_{H_2O} c^i_K + c^e_{H_2O} c^e_K &= n_K,\\
sn^i_{Na} + sn^e_{Na} + c^i_{H_2O} c^i_{Na} + c^e_{H_2O} c^e_{Na} &= n_{Na}.
\end{aligned}
\tag{10.34}
$$

Les relations (10.33) et (10.34) expriment la conservation du nombre de sites d'échange sur les faces de la membrane et du nombre total d'ions de chaque espèce.

A l'état stationnaire les seconds membres de (10.32) sont nuls. Seul l'ATP (X) est consommé dans la cellule.

Comme il s'ensuit de deux premières équations (10.32), la sortie active de Na^+ de la cellule est déterminée par la vitesse de réaction $\dot{c}_X$; à l'état stationnaire elle est compensée par le flux passif J_{Na}. En tenant les réactions enzymatiques pour irréversibles, nous poserons $k_{-1} = k_{-2} = k_{-3} = 0$. Dans cette approximation le flux actif de Na^+ sortant de la cellule s'écrira

$$J = k_1 (c^i_{Na})^\rho (c_X)^\varkappa n^i_K = k_2 (c^e_K)^\nu n^e_{Na} = sk_3 n^i_{Na} n^e_K. \tag{10.35}$$

Si l'on suppose que les concentrations de Na^+ et K^+ dans les solutions sont indépendantes l'une de l'autre, il vient

$$c^i_{Na} = \left[\frac{k_3 s}{k_1 (c_X)^\varkappa (k_3 s n^i + k_2 (c^e_K)^\nu)} \frac{J (J_0 - J)}{J_\infty + J}\right]^{1/\rho}. \tag{10.36}$$

Ici

$$J_0 = k_2 n^e (c^e_K)^\nu, \quad J_\infty = sk_3 k_2 n^i n^e (c^e_K)^\nu / (sk_3 n^i + k_2 (c^e_K)^\nu).$$

On voit que c^i_{Na} y est exprimée en tant qu'une fonction du flux à c^e_K et c_X donnés. L'analyse de l'expression (10.36) montre que la courbe de c^i_{Na} (J) présente une inflexion dans l'intervalle $0 < J < J_\infty$, ce qui est en accord avec l'expérience. Cela est aussi valable pour la courbe de c^e_K (J). Si $\rho = \nu = 1$ (absence de coopérativité), l'inflexion n'apparaît pas.

Ce modèle cinétique est en accord avec l'expérience et montre que le rôle spécifique de la protéine-enzyme dans le transport membranaire consiste à coupler le transport avec le métabolisme.

Nous ne parlons pas ici des voies concrètes qui servent à transporter les ions à travers les membranes. Les ions sont transportés à travers des *canaux*, dont on parlera plus bas (v. §§ 10.6, 11.4).

§ 10.6. Transport des particules chargées à travers les membranes

La conductibilité électrique des membranes cellulaires est de l'ordre de 10^{-3} $ohm^{-1} \cdot cm^{-2}$; elle est beaucoup moins importante (quelque 10^{-8} $ohm^{-1} \cdot cm^{-2}$) pour les membranes lipidiques artificielles (v. p. 350). Ces valeurs sont inférieures de plusieurs ordres de grandeur à la conductibilité électrique de la solution 0,01 M de KCl dans l'eau qui vaut 10^4 $ohm^{-1} \cdot cm^{-2}$.

Cette mauvaise conductibilité ionique de la membrane lipidique considérée comme un milieu homogène est due à la basse permittivité (2-3) des lipides, défavorable pour l'incorporation des particules chargées. Le coefficient de distribution des particules entre les phases lipidique et aqueuse est égal à $\exp(-W/RT)$, où W est l'énergie de la particule dans le lipide calculée en prenant pour le point de départ son énergie dans l'eau. Elle se compose de l'énergie électrostatique et de l'énergie d'interaction hydrophobe:

$$W = W_e + W_h. \tag{10.37}$$

Le premier terme qui est le plus important s'écrit, pour les particules sphériques de rayon a:

$$W_e = \frac{q_0}{a}\left(\frac{1}{\varepsilon} - \frac{1}{\varepsilon_w}\right). \tag{10.38}$$

Ici $q_0 = z^2e^2/2kT$ (z est la valence de l'ion, e la charge de l'électron), ε est la permittivité du lipide, $\varepsilon_w = 81$ celle de l'eau. Lorsque $T = 25$ °C, $z = 1$, $q_0 = 28{,}2$ nm. Pour $a = 0{,}2$ nm et $\varepsilon = 3$, $\exp(-W/RT) = 10^{-20}$.

Mais l'énergie de l'ion dans la membrane est réduite par, au moins, quatre facteurs (Markin, Pastouchenko, Tchizmadjev, 1977):

1. La membrane a une épaisseur finie.
2. Les ions peuvent former des paires ioniques à l'intérieur de la membrane.
3. La membrane peut posséder des pores (canaux) de haute permittivité.
4. L'ion peut être transporté par un ionophore (carrier) qui augmente le rayon effectif a.

Ces quatre effets sont schématisés sur la figure 10.9. Examinons-les à tour de rôle.

A la limite séparant la membrane et la phase aqueuse apparaissent des *forces images*. L'énergie électrostatique W_e de l'ion dans la membrane en est quelque peu réduite et prend la forme de la courbe représentée sur la figure 10.9, *a*. Cet effet abaisse l'énergie d'une quantité de l'ordre de a/l, soit de quelques pour cent. La hauteur de la barrière est de l'ordre d'une centaine de kJ/mol.

La formation de paires ioniques ne fournit pas non plus un gain considérable: au maximum, l'énergie est réduite de moitié.

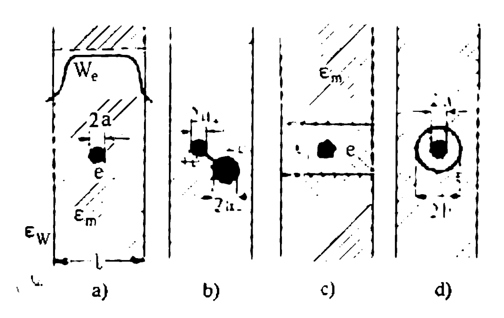


Fig. 10.9. Calcul de l'énergie d'un ion dans la membrane:
a) effet des forces images; *b*) formation de paires ioniques; *c*) pore hydrophile dans la membrane; *d*) effet de la complexation

Les pores à haute polarisabilité sont capables d'abaisser considérablement l'énergie de la charge dans la membrane (fig. 10.9, *c*). Lorsque $b \ll l$, l'énergie d'une particule se trouvant sur l'axe du pore vaut

$$W_p = \frac{e^2}{2\varepsilon_p a} + \frac{e^2}{\varepsilon_m b} P\left(\frac{\varepsilon_m}{\varepsilon_p}\right). \qquad (10.39)$$

Le deuxième terme de cette formule est dû aux forces images dans les parois du pore. La fonction $P(x)$ est calculée numériquement, sa valeur ne dépasse pas 0,25. Si ε_p est comparable à ε_w, le deuxième terme dans W_p l'emporte sur le premier. Lorsque $\varepsilon_m = 2$, $W_p \approx$ $\approx 1180/b$ (nm) kJ/mol.

Le quatrième facteur est le *transport ionique induit*. Il existe une série de substances servant d'*ionophores*: transporteurs de cations alcalins. On y trouve, notamment, les depsipeptides, antibiotiques cycliques (telle la valinomycine) étudiés en détail dans les travaux de Chemiakine, Ovtchinnikov, Ivanov, ainsi que par Pressman et col. Un autre groupe de carriers — la monactine, etc.— sont des macrotétrolides, composés cycliques à quatre liaisons éther et quatre liaisons ester.

La structure de quelques carriers cycliques est représentée sur la figure 10.10. Les ionophores sont des molécules neutres à haute polarisabilité formant avec l'ion des complexes sphériques (v.

Valinomycine

Enniatine B

Monactine

Fig. 10.10. Structure de quelques carriers cycliques

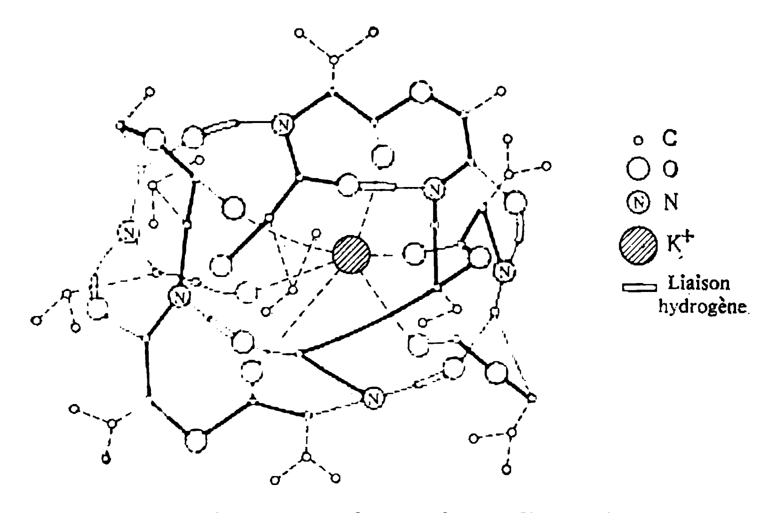


Fig. 10.11. Structure du complexe valinomycine-K+

fig. 10.9, *d* et fig. 10.11). L'énergie du complexe dans un milieu s'écrit

$$W_c = \frac{e^2}{2\varepsilon_m b} + \frac{e^2}{2\varepsilon_c}\left(\frac{1}{a} - \frac{1}{b}\right). \qquad (10.40)$$

Lorsque la polarisabilité de l'ionophore est suffisamment grande, on peut négliger le deuxième terme. A 25 °C, pour $b \approx 0{,}5$ à 1 nm,

$$W_c = 69{,}3 \text{ à } 34{,}4 \text{ kJ/mol.}$$

Il en découle que l'ionophore est capable d'abaisser sensiblement la barrière pour permettre le passage de l'ion. Les mesures directes de la conductibilité ionique des membranes en fonction de la température ont montré qu'en présence d'ionophores la conductibilité satisfait à l'équation d'Arrhenius:

$$g = A \exp(-\overset{+}{H}/RT). \qquad (10.41)$$

L'enthalpie d'activation $\overset{+}{H}$ vaut 136,5 kJ/mol pour la monactine, 231 kJ/mol pour la valinomycine et seulement 39 kJ/mol pour la gramicidine-A. La monactine et la valinomycine sont des carriers mobiles, alors que la gramicidine-A forme un pore polaire dans la membrane. En présence de valinomycine et de monactine la conductivité baisse brusquement, lorsque la membrane lipidique est « gelée », alors qu'en présence de gramicidine-A cet effet est absent. Le transport, facilité par la formation de pores, a un mécanisme « par relais » : le pore peut être formé par plusieurs molécules disposées les unes après les autres qui se passent l'ion. Parfois plusieurs molécules d'ionophore s'assemblent pour transporter un seul ion : c'est le mécanisme collectif. Les divers mécanismes du transport ionique induit sont schématisés sur la figure 10.12.

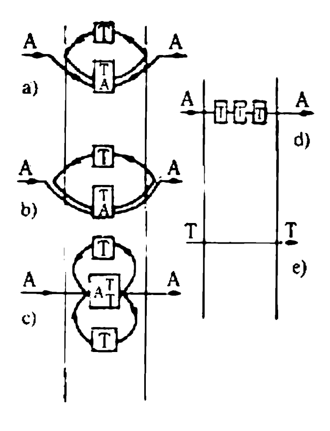


Fig. 10.12. Mécanisme du transport d'ions à travers la membrane :
a) carriers mobiles à « petit manège» (le carrier T est enfermé dans la membrane, la complexation se produisant à l'interface membrane-solution ; *b*) carriers mobiles à « grand manège » (le carrier T est présent aussi bien dans la membrane que dans la solution, la complexation se déroulant en solution); *c*) transport collectif (l'ion A est transporté par plusieurs particules du carrier T); *d*) transport par relais; *e*) passage direct

Nous l'avons déjà dit (p. 353), le transport membranaire peut être lié à la présence de « kinks », défauts mobiles de la structure dans la phase cristoliquide lipidique. Il est, peut-être, possible d'interpréter ce genre d'effets en partant de la théorie des *dislocations*.

En discutant le transport membranaire des cations monovalents, nous nous sommes approchés de près des problèmes relatifs aux membranes excitables, à la génération et à la propagation de l'influx nerveux.

§ 10.7. Réception moléculaire

La réception des signaux externes par les organes sensoriels fait intervenir des cellules réceptrices et des systèmes de cellules spécifiques pour chaque organe et qui transforment le signal — visuel, auditif, olfactif, gustatif ou tactile — dans les influx nerveux. La nature de cette transformation n'est encore que peu élucidée. Ici nous parlerons de la réception des signaux moléculaires qui est à la base de l'odorat et du goût. La réception visuelle sera traitée dans le chapitre 14 et la réception mécanique dans le § 12.6.

Les différentes cellules réceptrices possèdent des saillies, antennes, dont les membranes plasmiques comportent des protéines spécifiques pour chaque type donné de la réception. Les antennes peuvent se composer de ce qu'on appelle microvillosités et de stéréocils qui résultent de la différenciation de ces premières: ce sont des cils vibratiles, des flagelles et leurs dérivés. Ces formations incluent des protéines fibrillaires. Les flagelles sont normalement construits selon le principe $9 \cdot 2 + 2$, ayant 9 paires de fibrilles à la périphérie et une au centre (v. § 12.6). Dans d'autres cas la structure des antennes peut être représentée par la formule $9 \cdot 2 + 0$.

La perception olfactive est extrêmement importante pour certains organismes vertébrés et invertébrés. Les insectes utilisent un langage des odeurs: ils sécrètent des substances spéciales appelées *phéromones* qui servent de signaux. Il existe des phéromones que les insectes sociaux (les fourmis) utilisent comme signaux d'alerte ou pour indiquer l'accès aux stocks de provisions. Les papillons se servent de phéromones en tant qu'attractifs sexuels: c'est Jean Henri Fabre qui l'a découvert. On a su obtenir une série de phéromones à l'état pur, tel le *bombycol*, attractif sexuel de la femelle du bombyx du mûrier (*Bombyx mori*). Butenandt a isolé 4 mg de bombycol de 313 000 papillons et a déterminé sa structure:

$$H_3C-CH_2-CH_2-CH=CH-CH=CH-(CH_2)_7-CH_2OH.$$

Les papillons sont extrêmement sensibles au bombycol: pour exciter le mâle, il suffit de 10^{-18} g dans 1 cm^3 de solvant, soit 2500 molécules. Les assertions de certains auteurs, selon lesquelles les insectes posséderaient une signalisation électromagnétique, n'ont aucun fondement. L'orientation d'après l'odeur a été établie pour de nombreux organismes: mammifères, poissons, etc.

La haute sensibilité des récepteurs olfactifs prouve que l'odeur est transportée par des molécules. Les plus petites concentrations de substances odorantes perçues par l'homme égalent $4 \cdot 10^{-7}$ pour le

scatole, $4{,}4 \cdot 10^{-8}$ pour l'éthylmercaptan et $5 \cdot 10^{-9}$ mg/l pour le trinitrobutyltoluène. Une telle substance doit être suffisamment volatile et soluble dans l'eau et les lipides: les cellules réceptrices se trouvent dans un entourage muqueux, aqueux et la substance odorante doit passer à travers les membranes.

On a fait l'hypothèse que la réception de l'odeur était fondée sur la résonance des vibrations atomiques des molécules odorantes et des structures moléculaires du récepteur. On ne peut pas considérer cette théorie dite vibrationnelle ou quantique comme suffisamment argumentée. Le caractère de l'odeur et son intensité présentent une bien mauvaise corrélation avec les spectres de vibration de la substance. Les substances ayant des spectres très différents ont parfois des odeurs semblables et inversement. La théorie vibrationnelle est en contradiction avec certains principes physiques élémentaires. La cavité nasale est pratiquement fermée, c'est une sorte de corps noir: si des molécules y pénètrent, leur rayonnement doit être en équilibre avec les parois de la cavité. Un tel système ne peut percevoir des vibrations.

Moncrieff (1951) a supposé que la réception de l'odeur était fondée sur une correspondance stérique entre la structure de la molécule odorante et celle d'une certaine cavité située dans la cellule réceptrice. En partant de cette idée, Amoore (1962) a dégagé sept odeurs primaires, à savoir (les substances figurant entre parenthèses sont données à titre d'exemple):

1. Camphrée (camphre),
2. Musquée (pentadécanolactine),
3. Florale (phénylméthyléthylcarbinol),
4. De menthe (menthol),
5. Ethérée (dichloréthylène),
6. Acre, piquante (acide formique),
7. Putride (butylmercaptan).

Comme le montre la comparaison des structures des substances possédant ces odeurs, ce n'est pas la composition chimique, mais la forme et la taille des molécules qui déterminent l'odeur. La figure 10.13 présente les structures moléculaires et les formes des cavités correspondantes. Les odeurs âcre et putride dépendent non pas de la structure, mais de la charge: les corps électrophiles à petites molécules ont une odeur piquante ($HCOOH$, SO_2, Cl_2) et les nucléophiles une odeur putride (H_2S). Les odeurs composées apparaissent, lorsque des groupes différents d'une même substance occupent des cavités de divers types. La théorie d'Amoore a permis de réaliser la synthèse dirigée d'une substance odorante. On peut donc croire que la réception olfactive est le résultat de la reconnaissance directe d'une structure moléculaire réalisée au moyen d'interactions faibles

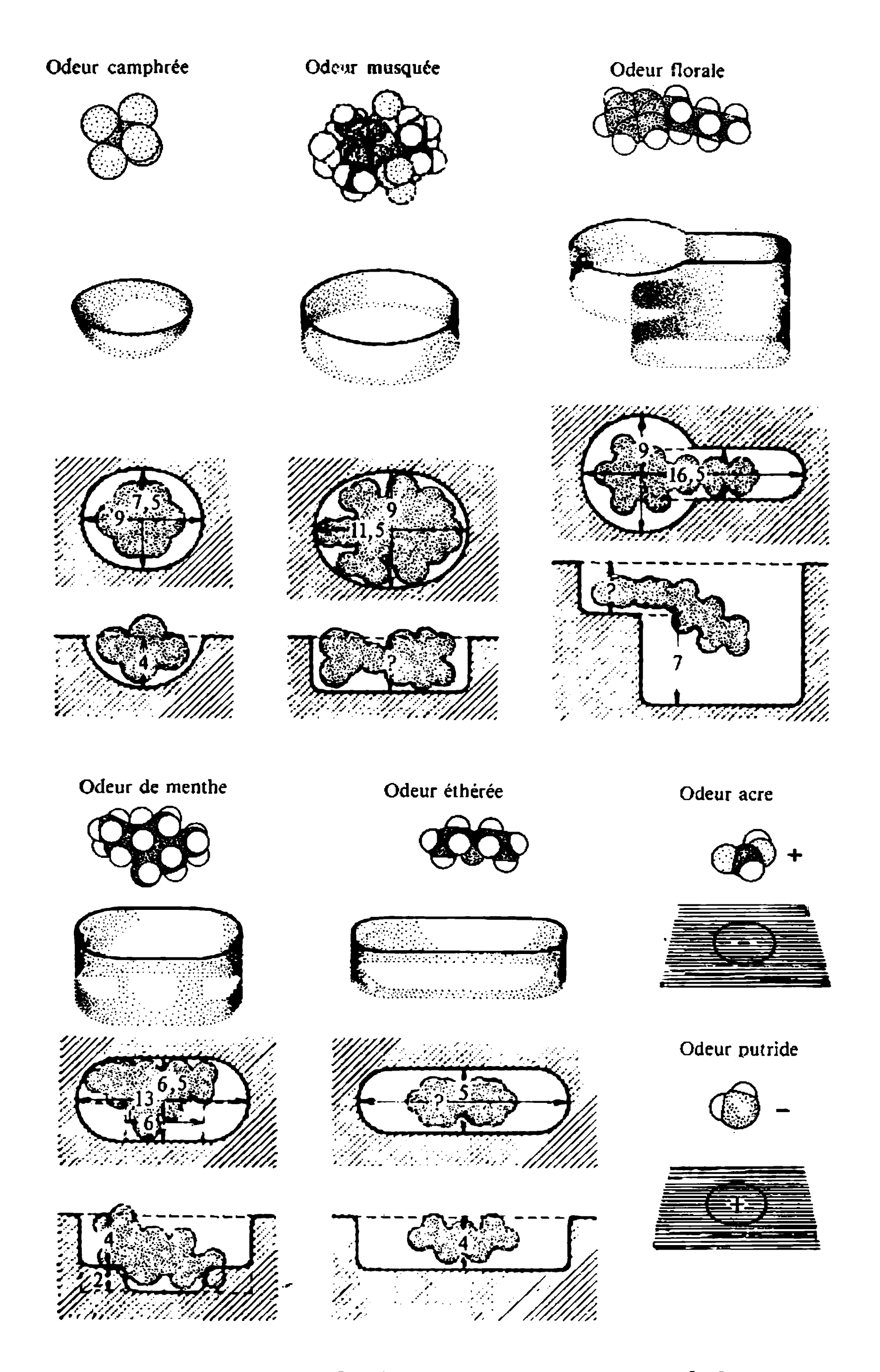


Fig. 10.13. Structures des molécules et des cavités dans les cellules réceptrices pour sept odeurs primaires selon Amoore

(cf. p. 55). On ne dispose actuellement de rien de mieux en matière de la théorie de l'odeur.

Fessenko et col. (1978) ont étudié les membranes de l'épithélium olfactif de la grenouille et du rat et y ont trouvé des structures présentant une grande affinité pour le camphre. Leur sensibilité spécifique à cette substance odorante, leur faible constante de dissociation, ainsi que l'absence de telles structures dans les autres tissus indiquent la présence, dans les membranes, de molécules réceptrices olfactives. Selon certains résultats le récepteur olfactif pour le camphre serait une protéine membranaire ayant une masse moléculaire de l'ordre de 125 000. Le diamètre des molécules d'une telle protéine doit être compris entre 8 et 10 nm. Cette valeur est en accord avec la taille des particules détectées par microscopie électronique sur les antennes des cellules olfactives de veau et de souris.

On n'a pas élucidé le mécanisme par lequel la fixation des molécules des substances odorantes sur les membranes des cellules olfactives engendre l'influx nerveux.

La *réception gustative* est moléculaire, mais non pas structurale. La saveur acide est due à la présence d'ions hydrogène, la saveur salée aux anions comme Cl^-. La saveur amère et sucrée peut être provoquée par l'action sur les récepteurs de substances ayant des structures très variées (parmi les substances amères on trouve aussi bien la quinine que le sulfate de sodium; parmi les substances à saveur sucrée le sucre et la saccharine). On a découvert des protéines spécifiques d'origine végétale qui possèdent une haute activité gustative. Deux de ces substances, la monelline et la thaumatine, d'une saveur sucrée intense, sont des chimiostimulants. D'autre part, le glycoprotéide miraculine est un modificateur du goût: après son action sur la langue un acide est perçu comme une substance sucrée. La miraculine serait fixée par la membrane plasmique. L'acide change sa conformation en stimulant la zone « saveur sucrée » de la membrane. L'effet gustatif doit se ramener, au bout du compte, à la reconnaissance moléculaire.

Les molécules réceptrices des membranes: protéines, glycoprotéides, etc., participent aux phénomènes biologiques les plus importants. La formation de l'immunité est traitée aux §§ 4.8 et 17.8. Les interactions entre cellules, responsables de la morphogénèse (v. § 17.7), s'effectuent par l'intermédiaire de signaux chimiques (moléculaires). La preuve en est fournie par des expériences directes, où l'interaction des cellules était perturbée en introduisant entre elles un bout de cellophane. L'interaction réapparaissait dès que la cellophane était remplacée par de l'agar-agar.

On sait depuis longtemps que les cellules séparées de l'éponge se réunissent de nouveau, une fois qu'on les a placées dans de l'eau de mer, en formant de petites éponges bien formées. La régénération s'avère spécifique. Il est évident que la reconnaissance qui conduit

à la mise en ordre des cellules suppose qu'il y ait signalisation moléculaire, contact et adhésion des surfaces cellulaires.

Il est établi que la perméabilité des membranes cellulaires augmente lors du contact. L'établissement du contact est précédé par la signalisation au moyen de substances appropriées sécrétées par les cellules. On a pu identifier certaines de ces substances. Ce sont des glycoprotéides caractérisés par la constante de sédimentation 62,5 S, d'une forme sphérique de diamètre 80 nm, pourvus d'excroissances longues de 110 nm et épaisses de 4,5 nm. Dans d'autres cas la signalisation fait directement intervenir certaines petites molécules, notamment, l'AMPc (v. pp. 42).

C'est l'adhésivité différentielle des cellules qui explique le mieux leur déplacement conduisant à leur triage. Edelman (1967) a émis une hypothèse qui explique la nature de la reconnaissance mutuelle des cellules, de leur mouvement et de la croissance des tissus en partant de la modulation superficielle. Selon cette hypothèse, la surface des cellules d'un type donné renferme des molécules de glycoprotéides spécifiques. Ces molécules sont décomposées par les protéases appropriées et les fragments qui restent sur les faces cellulaires reconnaissent les uns les autres. Ainsi, les protéases moduleraient l'état des surfaces en commandant ainsi l'adhésion des cellules dans les tissus en développement. Ces glycoprotéides seraient responsables de l'association cellulaire.

On peut noter le caractère général de divers phénomènes de modulation chimique des surfaces: liaisons AC-AG, fixation des virus, interactions avec les hormones, interactions spermatozoïde-ovule, etc. Cette hypothèse intéressante d'Edelman peut servir de base pour les études ultérieures.

CHAPITRE 11

PHYSIQUE DE L'INFLUX NERVEUX

§ 11.1. Axone et influx nerveux

L'excitation nerveuse se propage le long des fibres nerveuses appelées axones. Chez les organismes supérieurs on distingue usuellement le système nerveux central et périphérique. Le dernier comporte les axones qui servent à transmettre les signaux, ainsi que les ganglions du système nerveux végétatif. Les axones servent de voies de communication pour les messages afférents que les organes sensoriels envoient vers le système central et pour les signaux efférents qui vont du système central vers les muscles. Les axones sont des prolongements bien longs des cellules nerveuses à disposition centrale.

L'étude de l'influx nerveux est le problème traditionnel de la biophysique. Déjà Helmholtz mesurait la vitesse de propagation de l'influx nerveux. En 1902 Bernstein crée sa théorie membranaire de l'excitation. Les travaux de Hodgkin, Katz, Huxley, Tasaki et autres ont permis de découvrir les mécanismes de principe de la génération et de la propagation de l'influx.

Ainsi, on sait bien des choses sur la fonction de l'axone. Cependant, dans l'état actuel de la science on n'est capable que de simuler de façon formelle le fonctionnement du système nerveux central: on est encore bien loin de comprendre ses fonctions supérieures: la mémoire et la pensée.

On trouvera sur la figure 11.1 le schéma de la structure de la cellule nerveuse dite *neurone*. La cellule reçoit les messages provenant de nombreux autres neurones à travers leurs ramifications fines formant des contacts (*synapses*) avec le corps (soma) cellulaire et ses prolongements courts, les *dendrites*. Chez certains gros animaux les axones sont parfois longs de plusieurs mètres.

Les contacts avec les autres cellules ne se forment pas uniquement dans les synapses. La plus grande partie de la surface d'un neurone est revêtue de cellules adjacentes dites *gliales* ou *de Schwann*. Leur rôle n'est pas encore élucidé. Les membranes des cellules de Schwann forment la *gaine de myéline* des axones myélinisés, schématisée sur la figure 11.1. Cette gaine présente tous les 1 ou 2 mm

des interruptions appelées *nœuds* ou *étranglements de Ranvier*, longs d'environ 1 μm. Au niveau de ces étranglements la membrane de l'axone entre en contact avec le milieu ambiant. Il existe également des axones non myélinisés (amyéliniques).

La gaine myélinique de l'axone résulte d'un enroulement multiple de la membrane de la cellule de Schwann autour de l'axone. La myéline est donc une membrane à couches multiples (jusqu'à 250) qui met la membrane de l'axone à l'abri du milieu extérieur. La figure 11.2 montre le schéma d'une structure membranaire myélinique obtenu par radiocristallographie.

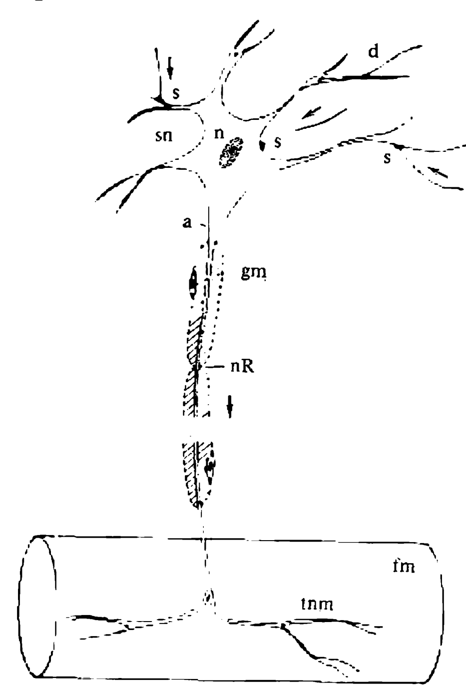


Fig. 11.1. Structure d'une cellule nerveuse (neurone moteur):
sn — soma neuronique, *a* — axone, *gm* — gaine myélinique, *nR* — nœuds de Ranvier, *d* — dendrite, *n* — noyau, *s* — synapses, *tnm* — terminaison du nerf moteur, *fm* — fibre musculaire

Il est établi depuis longtemps que les nerfs et les muscles sont aptes à générer des forces électromotrices, *biopotentiels*. L'activité électrique des cellules se manifeste par des décharges courtes, dont chacune dure près de 1 ms. L'appareillage expérimental actuel permet d'amplifier ces signaux et de les enregistrer. On a appris que l'activité du nerf s'accompagne toujours de phénomènes électriques. La figure 11.3 présente les impulsions dans le nerf optique du crabe *Limulus*, provoquées par un éclat lumineux d'une seconde (Hartline, 1934). La fréquence et le caractère de la séquence des impulsions sont fonction de l'intensité et de la composition spectrale de la lumière. L'intensité et la durée d'une impulsion isolée ne dépendent pas de la nature et de la force de l'excitation.

Le signal électrique qui correspond à une seule impulsion se propageant le long de l'axone est appelé *potentiel d'action* ou *spike*. C'est l'unité principale de l'information transmise par la fibre nerveuse.

La vitesse de propagation de l'influx v est comprise entre 1 et 100 m/s; elle est moins grande dans les axones amyéliniques et

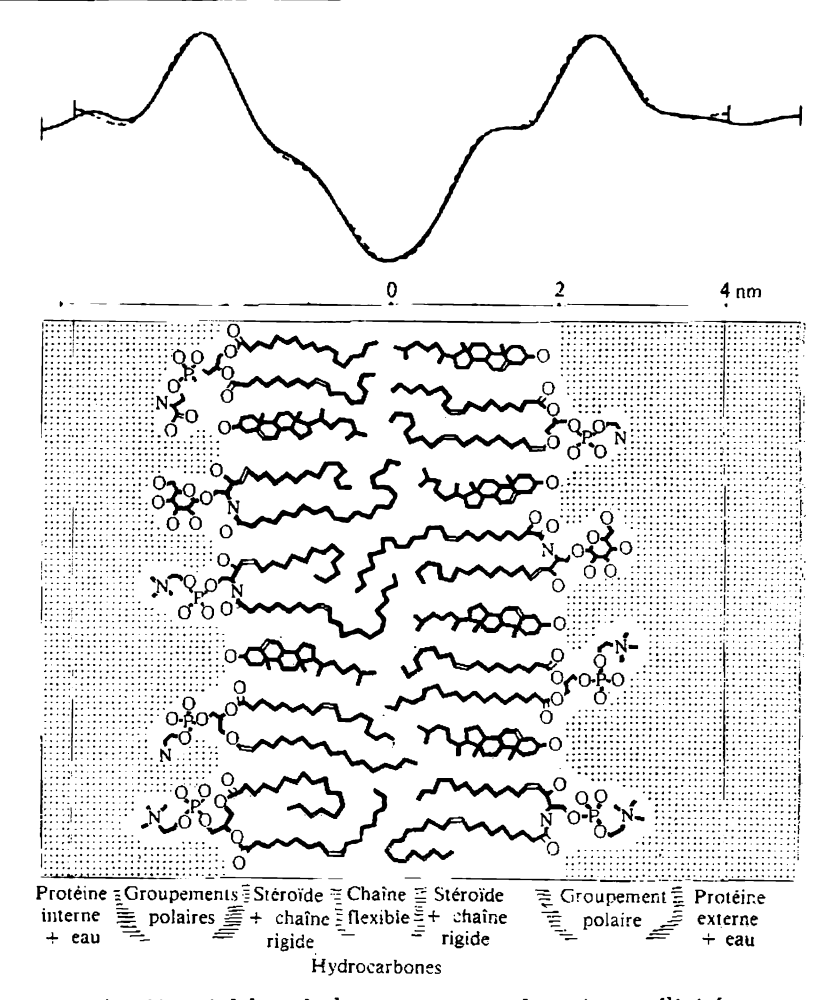


Fig. 11.2. Schéma de la structure membranaire myélinisée.
En haut on voit les profils de densité électronique pour les nerfs oculaire (trait interrompu) et sciatique (trait continu)

plus élevée dans les axones myélinisés. Ainsi, pour les fibres myélinisées du chat $v = 10$ à 100 m/s, pour l'axone géant du calmar (fibre ayant 600 µm de diamètre!) $v \approx 25$ m/s et pour les fibres amyéliniques du chat $v = 0{,}7$ à 2,3 m/s.

Bien que l'*axoplasme* soit une solution électrolytique, il ne conduit pas l'influx nerveux. La résistivité de l'axoplasme est comprise entre 10 et 100 ohm·cm. La résistance par unité de longueur d'une fibre de diamètre de 1 µm s'élève à 10^9-10^{10} ohm·cm,

soit une résistance 10^8 fois plus grande que celle d'un fil de cuivre du même diamètre. Dans un tel conducteur les pertes et les fuites sont grandes. Cependant, l'axone transmet l'influx à une distance qui peut atteindre plusieurs mètres, sans qu'il y ait affaiblissement ou mutilation.

La biophysique du nerf doit beaucoup aux techniques expérimentales prévoyant l'étude d'axones isolés : introduction de micro-

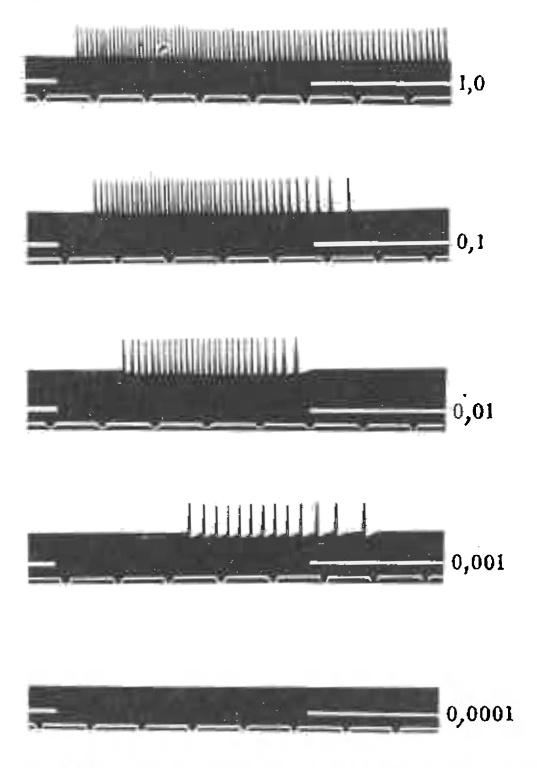


Fig. 11.3. Les impulsions dans le nerf optique de *Limulus*, provoquées par un éclat lumineux d'une seconde. Les chiffres à droite indiquent l'intensité relative de l'éclat. La période de l'éclairage est indiquée par la rupture du trait blanc supérieur ; chaque division du trait blanc inférieur correspond à 0,2 s

électrodes dans l'axone et perfusion qui consiste à exprimer l'axoplasme de la fibre pour le remplacer par une solution artificielle. Le travail est surtout commode avec les axones géants du calmar. L'expérience élémentaire se ramène à introduire dans l'axone deux microélectrodes, l'une fournissant le stimulus électrique pour provoquer l'excitation et l'autre servant à mesurer le potentiel qui en résulte (fig. 11.4).

L'expérience montre que l'intensité et l'allure temporelle des courants d'action ne dépendent pas de l'intensité du courant de stimulation et que le potentiel d'action n'apparaît pas, si le stimules électrique est inférieur à une certaine valeur limite. La fibre nerveuse fonctionne selon la loi de « tout ou rien »: le potentiel d'action d'une valeur constante apparaît ou bien n'apparaît pas.

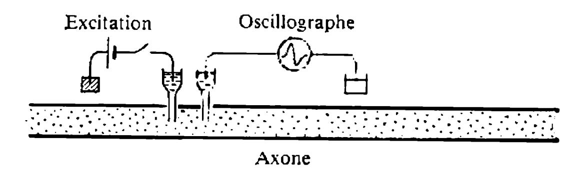


Fig. 11.4. Etude de l'influx nerveux à l'aide de deux microélectrodes

Une certaine quantité minimale d'électricité est nécessaire pour exciter l'axone. Si la durée Δt de l'impulsion appliquée diminue, il faut augmenter d'autant l'intensité de courant I. Pour les impul-

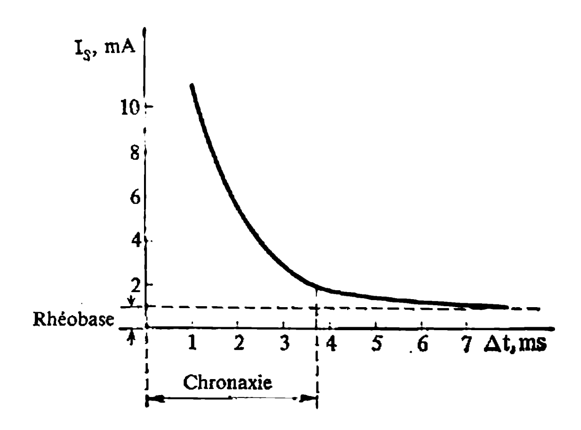


Fig. 11.5. Variation de l'intensité du courant de seuil en fonction de la durée de l'impulsion

sions rectangulaires durables il existe une intensité de courant minimale qui suffit pour l'excitation ; un courant plus faible sera inefficace, quelle que soit la durée. On trouvera sur la figure 11.5 la courbe qui décrit le courant de seuil I_s en fonction de Δt: c'est une hyperbole. Usuellement, on la définit à l'aide de la formule empirique

$$I_s = \frac{a}{\Delta t} + b. \tag{11.1}$$

La quantité b est dite *rhéobase*: c'est la valeur minimale du courant d'excitation, lorsque $\Delta t \to \infty$. Pour les impulsions très courtes (petites valeurs de Δt), le courant $I_s \approx a/\Delta t$; la quantité $I_s \Delta t \approx a$ est donc une constante qui caractérise la valeur de seuil de la quantité d'électricité. Il découle de la formule (11.1) que, lorsque $I_s = 2b$, $\Delta t_{chr} = a/b$ (c'est la *chronaxie*). Mais en réalité à $\Delta t = a/b$ correspond le courant $I_s \approx 1{,}4b$: la formule (11.1) n'est pas valable pour tout l'intervalle des valeurs de Δt.

Si l'on applique à la fibre deux stimulus successifs séparés par un certain intervalle de temps, le comportement de la fibre sera fonction de cet intervalle. Immédiatement après la génération de l'influx la portion concernée de la fibre présente l'*état réfractaire* absolu: il est impossible de l'exciter de nouveau. Vient ensuite l'état réfractaire relatif, où le potentiel de seuil a une valeur élevée. La durée de tout l'état réfractaire varie entre une et plusieurs millisecondes.

A l'état de repos l'axoplasme est chargé négativement par rapport au milieu extérieur. Le potentiel de repos vaut environ —80 mV. L'excitation de seuil a un potentiel égal approximativement à —50 mV, alors que le potentiel d'action vaut 40 mV. Cela est schématisé sur la figure 11.6.

Le passage de l'influx est déterminé par le changement d'état de la membrane de l'axone soumise à la stimulation. Comme on l'a déjà mentionné, dans l'état de repos de la membrane cellulaire le transport actif des ions fait que la concentration du cytoplasme (axoplasme) en ions K^+ est considérablement supérieure à celle du milieu extérieur, la situation étant inverse pour les ions Na^+.

Tableau 11.1

Concentration en ions et autres substances de l'axone du calmar *Loligo*

Corps	Concentration, mmol par kg de H_2O			Corps	Concentration, mmol par kg de H_2O		
	Axoplasme	Sang	Eau de mer		Axoplasme	Sang	Eau de mer
K^+	400	20	10	Acide glutamique	12	-	—
Na^+	50	440	460	Acides succinique et fumarique	17	—	—
Cl^-	40 à 150	560	540	Orthophosphate	2,5 à 9,0	—	—
Ca^{2+}	0,4	10	10	ATP	0,7 à 1,7	—	—
Mg^{2+}	10	54	53	Arginine-phosphate	1,8 à 5,7	—	—
Acide iséthionique	250	—	—	Eau	865	870	966
Acide aspartique	75	—	—				

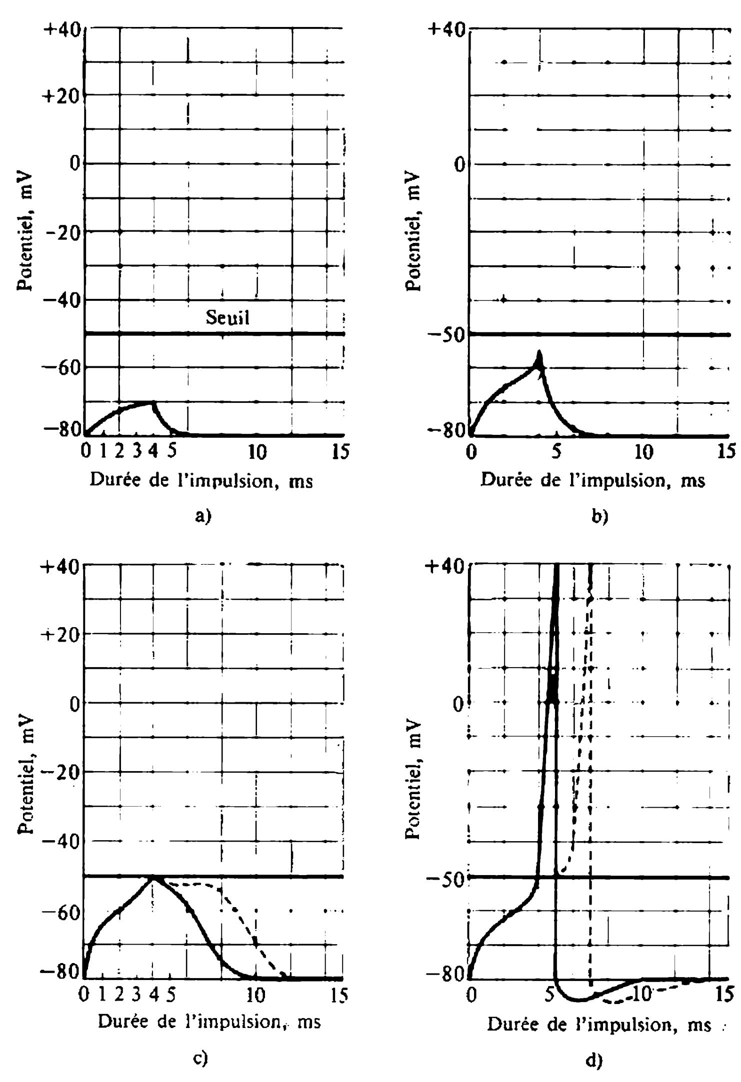


Fig. 11.6. Excitation de la membrane de l'axone:

a) et b) impulsions sous-liminaires, c) impulsion liminaire amortie, d) impulsion surliminaire et le potentiel d'action qu'elle engendre; les traits interrompus montrent l'impulsion qui se déplace

Le tableau 11.1. donne la composition de l'axoplasme des axones de *Loligo*, la composition du plasma de sang et celle de l'eau de mer, voisine de cette dernière.

Un potentiel de stimulation appliqué à la membrane augmente tout d'abord sa perméabilité aux ions Na^+. Les ions Na^+ pénètrent

dans l'axone en inversant le signe de la charge de la face interne de la membrane: elle devient positive. Autrement dit, il s'agit d'une *dépolarisation* de la membrane.

Si l'on exprime la différence de potentiel à l'aide de la formule (10.23)

$$\varphi \equiv \Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{P_K c_K^i + P_{Na} c_{Na}^i + P_{Cl} c_{Cl}^e}{P_K c_K^e + P_{Na} c_{Na}^e + P_{Cl} c_{Cl}^i}, \qquad (11.2)$$

l'état de repos sera caractérisé par le rapport des perméabilités ioniques:

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0{,}04 : 0{,}45.$$

A l'état d'excitation qui correspond à la génération du potentiel d'action,

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20 : 0{,}45.$$

Soulignons qu'interpréter l'excitation en tant que le résultat de la variation des perméabilités ioniques est un procédé phénoménologique qui ne découvre pas le mécanisme moléculaire du processus.

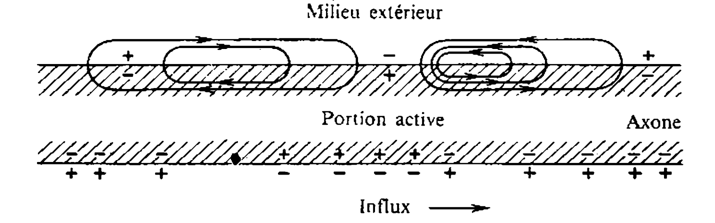


Fig. 11.7. **Courants électriques résultant de la dépolarisation de la membrane de l'axone**

La dépolarisation de la membrane conduit à l'apparition de courants qui se ferment à travers le milieu conducteur extérieur. Ces courants excitent la portion suivante de l'axone (fig. 11.7).

Ainsi, selon la théorie membranaire, au cours de la génération de l'influx il y a ouverture d'un certain canal, à travers lequel les ions Na^+ pénètrent à l'intérieur de l'axone en provoquant la dépolarisation de la membrane. Ensuite, toujours pendant la génération de l'influx, le canal à sodium se ferme, alors que s'ouvre un canal à potassium. Des ions K^+ sortent à l'extérieur en rétablissant la charge négative sur la face interne de la membrane: c'est le phénomène de *repolarisation* de la membrane. Après la période réfractaire la membrane de l'axone redevient apte à transmettre un nouvel influx (fig. 11.8).

Comme cela découle de la figure 11.7, le courant longitudinal total traversant la section de l'axone et le milieu extérieur est nul: en tout point donné les courants internes sont égaux en intensité et opposés en sens aux courants externes. Mais la densité du courant longitudinal et la différence de potentiel longitudinale entre deux

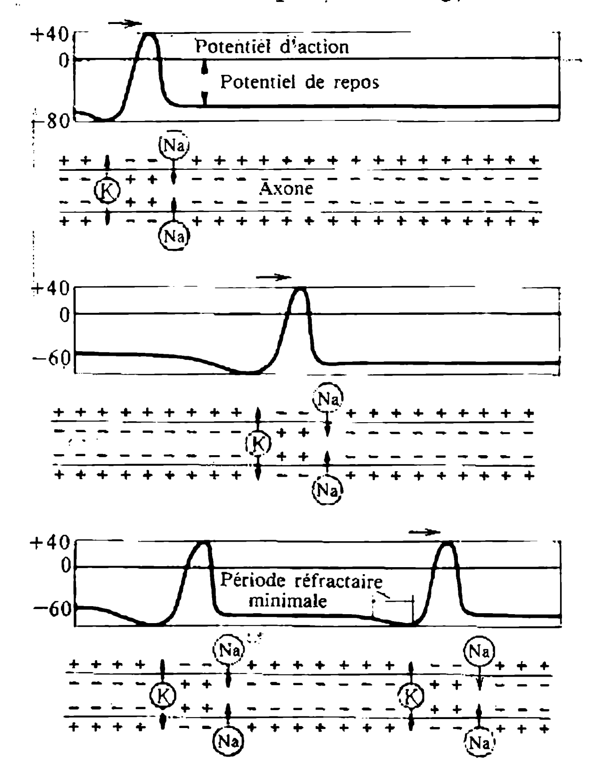


Fig. 11.8. **La propagation de l'influx nerveux s'accompagne d'une variation de la perméabilité ionique de la membrane de l'axone**

points à l'intérieur de l'axone sont autres qu'à l'extérieur. La membrane de l'axone possède une résistance de 1000 ohms·cm² et une capacité de 1 μF/cm², ce qui correspond à une couche lipidique bimoléculaire de 5 nm, de permittivité $\varepsilon = 5$ et de résistivité $2 \cdot 10^9$ ohms × × cm. Au cours de la génération de l'influx la conductibilité de la membrane se voit multiplier par environ 10^3. Il est possible de simuler les propriétés électriques de la membrane à l'aide d'un schéma équivalent représenté sur la figure 11.9. On n'y voit qu'un seul élément de la membrane: il faut se représenter une longue succession linéaire de ces éléments formant un câble continu. La résistance R

caractérise l'axoplasme, la solution externe présente un grand excès: on l'a donc montrée comme un conducteur sans résistance. Les « piles » à sodium et à potassium $\mathscr{E}_{Na}$ et $\mathscr{E}_K$ déterminent la génération de l'influx, la « pile » supplémentaire $\mathscr{E}_Y$ représente le mouvement des autres ions qui ne varie pas lors de l'excitation.

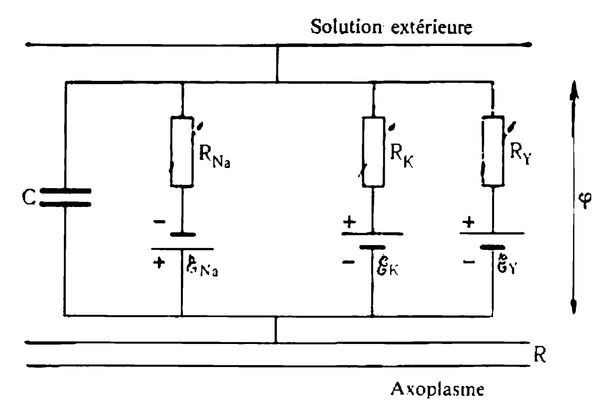


Fig. 11.9. Schéma équivalent d'un élément de la membrane excitable de la fibre nerveuse

La propagation de l'influx est donc un processus auto-entretenu semblable à la combustion du cordeau Bickford.

Comme nous l'avons déjà dit, l'influx se propage plus vite dans la fibre myélinisée que dans la fibre amyélinique. La propagation

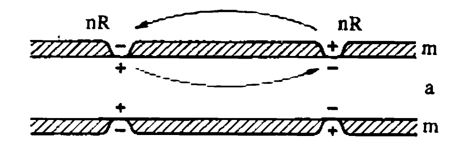


Fig. 11.10. Propagation saltatoire de l'influx: *nR* — nœud de Ranvier, *m* — myéline, *a* — axoplasme

de l'influx dans un axone myélinisé est *saltatoire*: l'influx « saute » d'un nœud de Ranvier à l'autre. Les canaux à potassium et à sodium ne s'ouvrent et ne se ferment qu'à l'emplacement des étranglements de Ranvier, car les zones myélinisées sont bien isolées. La capacité de la myéline est faible, ce qui explique la vitesse élevée de la propagation de l'influx. La figure 11.10 montre le schéma de la propagation saltatoire de l'influx.

La myélinisation, propre aux axones des vertébrés, leur assure un avantage évolutif, car, pour une même vitesse de propagation

de l'influx, la fibre myélinisée peut être 25 fois plus mince que la fibre amyélinique.

La théorie membranaire est directement confirmée par des expériences portant sur la perfusion des axones. Ainsi, on a pu extraire l'axoplasme de l'axone géant de *Loligo* sans endommager la membrane et le remplacer par une solution artificielle. Un axone ainsi traité est capable de conduire 10^5 à 10^6 impulsions plusieurs heures durant.

Le potentiel de repos disparaît, si les concentrations extérieure et intérieure en K^+ sont égales. Le potentiel de repos s'annule, lorsqu'on substitue NaCl à KCl de l'axoplasme. En même temps, le potentiel de repos est peu sensible aux concentrations en K^+ inférieures à 20 mM. Des expériences de perfusion montrent que le potentiel de repos est effectivement régulé par les ions K^+. Le remplacement de KCl par NaCl et une augmentation considérable de la concentration en K^+ (jusqu'à 600 mM) créent la situation inverse par rapport à la normale : l'intérieur de la fibre se trouve alors chargé positivement et non plus négativement vis-à-vis du milieu extérieur. En effet, une fibre immergée dans une solution isotonique de KCl et remplie de même solution de NaCl présente une charge positive de la solution interne par rapport à la solution externe ($\varphi = 50$ à 60 mV).

Selon des expériences directes avec des traceurs atomiques, la conduction de l'influx est liée à l'accroissement de la vitesse de déplacement du potassium et du sodium en fonction des gradients de concentration. Dans l'axone géant de la seiche *Sepia* on observe, pour chaque influx, un courant d'entrée de Na^+, égal à $10{,}3 \times 10^{-12}$ mol/cm², et un courant de sortie de $6{,}6 \cdot 10^{-12}$ mol/cm². L'entrée nette de Na^+ ($3{,}7 \cdot 10^{-12}$ mol/cm²) par influx est approximativement égale à la sortie de K^+. En effet, pour faire varier de 120 mV le voltage d'un condensateur de 1 μF, il faut une charge de $0{,}12 \times 10^{-6}$ C, ce qui équivaut à $1{,}3 \cdot 10^{-12}$ mol/cm² d'un cation monovalent. Ainsi, l'afflux mesuré de Na^+ est largement suffisant pour créer le potentiel d'action.

Dans un axone amyélinique au cours d'un influx 1 μm² de surface est traversé par près de 20 000 ions Na^+. Dans un axone myélinisé le nombre d'ions Na^+ rentrant par chaque nœud de Ranvier s'élève à $6 \cdot 10^6$. L'aire membranaire du nœud étant égale à 20 μm², 1 μm² est traversé par quelque 300 000 ions Na^+. Dans un nœud la densité du courant ionique est à peu près 10 fois celle du courant des axones géants amyéliniques.

Lors de la génération de l'influx le nerf subit des phénomènes thermiques : il se réchauffe, puis se refroidit. Il a été démontré que cet effet est déterminé par trois facteurs. D'abord, la génération du potentiel d'action s'accompagne d'une dissipation d'énergie provoquée par les flux ioniques. Deuxièmement, il y a en même temps une dissipation due à la variation des charges séparées portées par

les deux faces de la membrane : la réduction du potentiel transmembranaire correspond à un dégagement de chaleur. Mais cette contribution est inférieure d'un ordre de grandeur à celle des ions. Enfin, une chaleur se dégage (pour être absorbée par la suite) lors de la transition du canal ionique de l'état fermé à l'état ouvert. La théorie retrouve, en gros, l'expérience qui donne pour le nerf vague du lapin un dégagement de chaleur égal à 100, suivi de l'absorption de 93 μJ/g par influx.

§ 11.2. Propagation de l'influx nerveux

On connaît des processus électrochimiques relativement simples qui présentent une analogie avec la propagation de l'influx nerveux. Un tel processus a lieu, notamment, lorsqu'on immerge un fil de fer dans de l'acide nitrique concentré. Une couche d'oxyde passivante apparaît alors à la surface du fil. Si l'on détruit cette couche en un point quelconque, le fer se dissout violemment. Le processus se propage le long du fil : le front d'activation se déplace suivi de la repassivation du fer. Ce modèle a été soigneusement étudié par Lillie, ainsi que par Markine. La théorie montre une analogie formelle poussée entre le modèle de Lillie et la propagation de l'influx nerveux. Il existe aussi d'autres modèles.

L'excitation nerveuse débute par la génération locale du potentiel d'action. Puis l'influx se propage le long des axones nerveux et des *syncytia*, systèmes formés de plusieurs fibres, l'influx pouvant passer d'une fibre sur une autre. Les syncytia sont caractéristiques de la structure des muscles lisses tapissant les organes creux des animaux. L'excitation nerveuse passe d'un neurone à l'autre par transmission synaptique, dont la nature constitue un problème à part.

Avant d'aborder la génération de l'influx, déterminée par les processus physico-chimiques se déroulant dans la membrane active, considérons l'interprétation physique de la propagation de l'influx.

Dans ce domaine une importance primordiale revient aux travaux de Hodgkin et Huxley qui ont embrassé tout le problème du calcul théorique : aussi bien de la forme du potentiel d'action que de la vitesse de propagation de l'influx.

L'équation de base pour le courant membranaire apparaissant dans une portion homogène en réponse à un déplacement de potentiel, peut s'écrire

$$I = C\frac{d\varphi}{dt} + I_i, \qquad (11.3)$$

où φ est la différence de potentiel entre les deux faces de la membrane de l'axone, $C\dot{\varphi}$ le courant capacitif lié à la variation de la densité des ions sur les faces externe et interne de la membrane, I_i le courant

ionique déterminé par le mouvement des particules chargées à travers la membrane. Dans l'axone du calmar I_i se compose des courants d'ions Na^+ et K^+ (I_{Na} et I_K) et du courant de fuite I_Y. Hodgkin et Huxley ont montré expérimentalement que ces courants ioniques dépendent linéairement des potentiels électrochimiques correspondants :

$$I_{Na} = g_{Na}(\varphi - \varphi_{Na})$$

et ainsi de suite. La théorie de Hodgkin et Huxley part d'une mesure séparée des courants de potassium et de sodium. On utilise pour le faire la *technique de fixation de voltage* (*voltage clamp*). Servons-nous du modèle de la figure 11.9. En court-circuitant la membrane avec

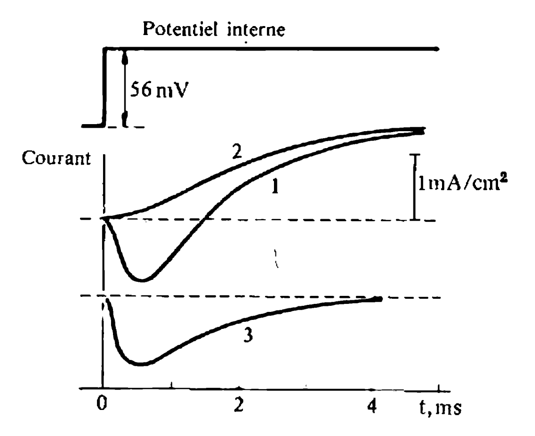


Fig. 11.11. Composantes potassique et sodique du courant I membranaire: 1. $I = I_{Na} + I_K$; 2. Le sodium est remplacé par la choline, $I = I_K$; 3 = 1—2, $I = I_{Na}$
La déviation vers le haut est le courant sortant

un fil métallique, on peut annuler brusquement le potentiel membranaire. Le condensateur C se décharge, le courant n'étant désormais fourni que par les ions traversant R_{Na} et R_K. Lors d'une brusque dépolarisation de la membrane jusqu'à une valeur du potentiel comprise entre 20 et 110 mV, le courant ionique total se réduit d'abord au courant d'entrée de Na^+ suivant le gradient de concentration. Environ 1 ms plus tard apparaît le courant de sortie de K^+. Si la différence de potentiel totale est égale à φ_{Na}, on n'observe que le courant de potassium. Lorsque $\varphi > \varphi_{Na}$ le courant de sodium est orienté vers l'extérieur. On sépare le courant en ses composantes en faisant varier les concentrations des ions Na^+ et K^+. La figure 11.11 montre les courbes $I(t)$ observées. Si l'axone est plongé dans de l'eau de mer, le courant total $I = I_{Na} + I_K$ est représenté par la courbe *1*. Na^+ étant remplacé par de la choline, on n'observe que le courant de potassium : courbe *2*. La différence de ces deux courbes (*3*)

donne I_{Na}. Lorsque le potentiel se déplace rapidement de $+56$ mV à l'intérieur de la fibre (« mise en court-circuit » de la membrane), la conductance sodique g_{Na} croît d'abord rapidement de 0 à $25 \times \times 10^{-3}$ ohm$^{-1}\cdot$cm^{-2}, pour décroître ensuite (fig. 11.12). La conductance potassique augmente lentement suivant une courbe en S, atteignant un niveau constant en 5 ou 6 ms. Au cours de la repolarisation de la membrane g_{Na} décroît beaucoup plus vite que g_K. Les divers écarts du potentiel membranaire conduisent à une variation

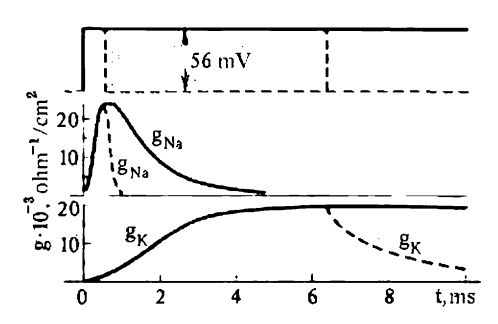


Fig. 11.12. Variation de g_{Na} et g_K, quand la membrane est dépolarisée de 56 mV. Les traits continus montrent la conductance lors d'une dépolarisation durable, les traits interrompus la conductance pour les cas où la membrane est repolarisée après 0,6 et 6,3 ms

régulière des courbes $g_{Na}(t)$ et $g_K(t)$. Les conductances potassique et sodique de la membrane de l'axone dépendent de façon substantielle de la présence d'ions Ca^{2+} (v. § 11.3).

Hodgkin et Huxley ont proposé une description satisfaisante des variations observées en partant d'un modèle spécial. On fait l'hypothèse que K^+ ne peut traverser la membrane que si quatre particules monoélectriques s'approchent d'une certaine région de la membrane sous l'action du champ électrique. La conductance potassique s'écrit

$$g_K = \bar{g}_K n^4, \tag{11.4}$$

où $\bar{g}_K$ est la conductance maximale, $n < 1$ la probabilité de l'arrivée d'une particule. L'équation cinétique pour n est de la forme

$$\dot{n} = \alpha_n (1 - n) - \beta_n n, \tag{11.5}$$

où les constantes de vitesse α_n et β_n ne dépendent que du potentiel membranaire φ, la concentration en ions Ca^{2+} étant constante. Lorsque le potentiel positif à l'intérieur de la fibre α_n augmente, β_n diminue.

Etant donné que le canal à potassium s'ouvre lors de l'approche d'une particule à charge négative, on peut interpréter n comme la

probabilité d'élimination de deux ions Ca^{2+} du canal à potassium.

On suppose ensuite que le canal à sodium s'ouvre, lorsque trois particules activantes pénètrent simultanément dans la portion donnée, tandis qu'une particule bloquante en est éliminée. En désignant par m la probabilité d'arrivée d'une particule activante et par h la probabilité d'élimination d'une particule bloquante, on a

$$g_{\mathrm{Na}} = \bar{g}_{\mathrm{Na}} m^3 h. \tag{11.6}$$

On écrit pour m et h deux équations analogues à (11.5):

$$\dot{m} = \alpha_m (1 - m) - \beta_m m, \tag{11.7}$$

$$\dot{h} = \alpha_h (1 - h) - \beta_h h. \tag{11.8}$$

Lorsque l'intérieur de l'axone devient plus positif, α_m et β_h augmentent, α_h et β_m diminuent.

La tension étant fixe, tous les α et β sont constants; par conséquent, n, m et h sont des fonctions exponentielles du temps. Le calcul des courbes représentant g_{K} et g_{Na} en fonction de t et de φ, effectué selon ces formules, présente un bon accord avec l'expérience.

La densité du courant membranaire total est fournie par l'expression suivante (cf. (11.3)):

$$I = C \frac{\partial \varphi}{\partial t} + (\varphi - \varphi_{\mathrm{K}}) \bar{g}_{\mathrm{K}} n^4 + (\varphi - \varphi_{\mathrm{Na}}) \bar{g}_{\mathrm{Na}} m^3 h + (\varphi - \varphi_{\mathrm{Y}}) \bar{g}_{\mathrm{Y}}, \tag{11.9}$$

où C est la capacité de la membrane par unité d'aire. Le premier terme de (11.9) est le courant capacitif, $\bar{g}_{\mathrm{Y}}$ est la conductance pour Cl^- et autres ions qui correspond à la fuite.

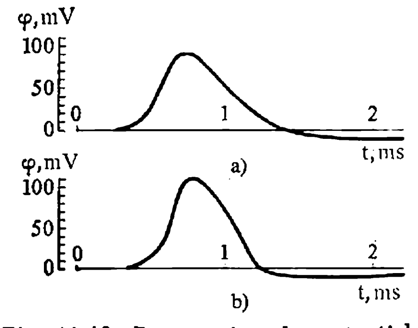


Fig. 11.13. Propagation du potentiel d'action:
a) théorie, b) expérience (axone du calmar à 18,5 °C)

Provoquons le potentiel d'action par une impulsion courte. Dès que l'excitation a cessé, le courant radial et le courant longitudinal sont nuls dans cette portion de l'axone. Par conséquent, $I = 0$ pour $t > 0$. La dépendance $\varphi(t)$ est tirée de (11.9) en prenant pour la condition aux limites la valeur initiale de φ. La théorie retrouve bien l'expérience (fig. 11.13).

Soit une certaine portion de l'axone, de longueur l. Le rayon de l'axoplasme est a, sa résistance R_a. A l'état stationnaire le courant entrant dans la portion considérée est nul. On a

$$\frac{\pi a^2}{R_a} \left[-\frac{\partial \varphi}{\partial x} + \left(\frac{\partial \varphi}{\partial x} + \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} l \right) \right] = 2\pi a l I, \tag{11.10}$$

où I est donné par l'équation (11.9). Dans le premier membre de (11.10) figure la divergence du courant longitudinal, dans le second membre le courant membranaire. Si l'influx se propage avec une vitesse v constante, on a l'équation d'onde

$$\frac{\partial^2\varphi}{\partial x^2}=\frac{1}{v^2}\frac{\partial^2\varphi}{\partial t^2} \tag{11.11}$$

et on déduit de (11.9) à (11.11) l'*équation de Hodgkin-Huxley*:

$$\frac{a}{2Rv^2}\frac{d^2\varphi}{dt^2}=$$

$$=C\frac{d\varphi}{dt}+(\varphi-\varphi_K)\bar{g}_K n^4+(\varphi-\varphi_{Na})\bar{g}_{Na}m^3h+(\varphi-\varphi_Y)\bar{g}_Y. \tag{11.12}$$

La solution numérique de (11.12) correspondant aux valeurs finies de φ, donne une vitesse v qui retrouve bien les données expérimentales. Ainsi, pour l'axone du calmar la vitesse calculée à l'aide des valeurs expérimentales de a, R_a, C, φ_K, φ_{Na}, φ_Y, $\bar{g}_K$, $\bar{g}_{Na}$, $\bar{g}_Y$, vaut 18,8 m/s. L'expérience donne 21,2 m/s. A cette valeur de v le potentiel retrouve, après avoir atteint le niveau du potentiel d'action, son état de repos.

Des études ultérieures ont permis de séparer et de simplifier le problème. En calculant la vitesse de propagation de l'influx, on peut faire abstraction de sa forme exacte et considérer une impulsion se déplaçant le long d'un câble électrique constitué par la membrane de l'axone et caractérisé par des valeurs déterminées de la résistance et de la capacité. L'inductance de la fibre n'y joue qu'un rôle subalterne. Les approches correspondantes ont été réalisées, notamment, dans les travaux de Kompaneyets (1966, 1971).

Il est possible de dégager quatre phases de la propagation d'un influx. D'abord, il y a accroissement de la différence de potentiel à partir de sa valeur au repos φ_0 jusqu'à la valeur de seuil φ_1. Deuxièmement, cette différence augmente de φ_1 jusqu'à φ_{max}: c'est le potentiel d'action. Ensuite le système retrouve la valeur initiale φ_0 et, enfin, passe dans l'état réfractaire. La vitesse de propagation d'un influx isolé n'est déterminée que par deux premières phases, au cours desquelles le potentiel s'accroît. En supposant rectangulaire l'impulsion initiale de courant et en tenant compte des valeurs de la capacité et de la résistance par unité de longueur de l'axone et de son rayon, on arrive à calculer la vitesse de propagation dans l'axone amyélinique, ainsi que dans l'axone myélinisé en accord raisonnable avec l'expérience. Les relations obtenues qui lient la vitesse aux paramètres énumérés découlent aussi de façon directe des considérations dimensionnelles.

La théorie de la propagation de l'influx a été développée dans les travaux de Markine, Tchizmadjev et col. (1969-1974).

La propagation de l'excitation dans une fibre homogène amyélinique est décrite par l'équation générale

$$\frac{\partial\varphi(x,\ t)}{\partial t}=\frac{1}{RC}\,\frac{\partial^2\varphi(x,\ t)}{\partial x^2}-\frac{I}{C},\qquad(11.13)$$

où φ est le potentiel de la membrane compté à partir du potentiel de repos, R la somme des résistances externe et interne, C la capacité de l'unité de longueur de la fibre, I le courant ionique traversant la membrane (également rapporté à l'unité de longueur de la fibre) ; $I > 0$, si le courant est dirigé vers l'extérieur.

Dès que le seuil est atteint, le courant ionique commence à pénétrer à l'intérieur de la fibre ; après un certain temps il change de sens et se dirige vers l'extérieur.

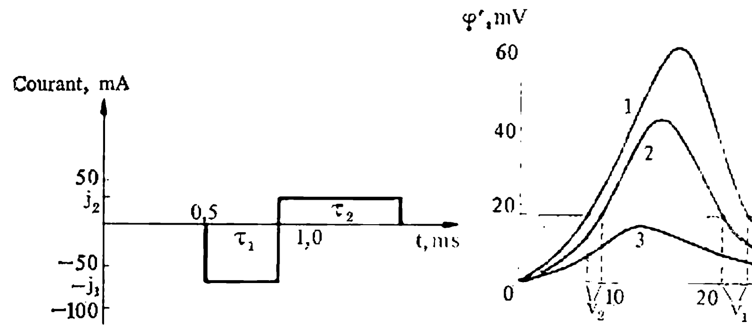


Fig. 11.14. Approximation du courant ionique lors de l'excitation de la membrane

Fig. 11.15. Vitesse de propagation de l'influx pour quelques valeurs de $\overline{g}_Y$: *1.* 0. *2.* 1 ohm⁻¹·cm⁻². *3.* 5,74 ohm⁻¹·cm⁻²

rieur. Il est possible d'approcher le courant ionique à l'aide de deux « plateaux » rectangulaires (fig. 11.14). Dans cette approximation l'équation (11.13) est résolue assez facilement. On introduit la coordonnée $\xi = x - vt$, où v est la vitesse de propagation de l'influx. On récrit l'équation (11.13) sous la forme

$$\frac{d^2\varphi(\xi)}{d\xi^2}+vRC\frac{d\varphi(\xi)}{d\xi}-RI(\xi)=0.\qquad(11.14)$$

On trouve les solutions ondulatoires à condition que $\varphi(\infty) = 0$ et que φ soit fini, lorsque $\xi\to-\infty$. Il y a deux solutions, à valeurs différentes de v, qui satisfont à l'équation (11.14). La figure 11.15 représente les courbes du seuil d'excitation φ' en fonction de v pour trois valeurs de la conductance de fuite $\overline{g}_Y$. Les paramètres adoptés pour l'axone du calmar (v. fig. 11.14) sont les suivants : $j_1 = 63\ \mu A$, $j_2 = 40\ \mu A$, $\tau_1 = 36$ ms, $\tau_2 = 0{,}55$ ms $(j_1\tau_1 = j_2\tau_2)$, $C = 0{,}157\ \mu F/cm$, la résistivité de l'axoplasme $\rho = 50$ ohm·cm, le diamètre de l'axone $a = 0{,}05$ cm, $\varphi' = 18{,}5$ mV. La droite $\varphi' = 18{,}5$ mV coupe la courbe $\varphi'(v)$ en deux points, lorsque les valeurs de $\overline{g}_Y$ sont suffisamment petites. Les vitesses plus élevée (v_1) et moins élevée (v_2) s'écrivent

$$v_1\approx\frac{j_1/(\varphi'RC^2)-2/(r_mRC)}{[j_1/(\varphi'RC^2)-1/(r_mRC)]^{1/2}},\qquad(11.15)$$

$$v_2\approx\left[\frac{2\varphi'}{Rj_1\tau_1(\tau_1+\tau_2)}\right]^{1/2}.\qquad(11.16)$$

Ici r_m est la résistance membranaire de l'unité de longueur de l'axone à l'état de repos. Comme $j_1 \sim a$, $R \sim a^{-2}$, $C \sim a$, il vient $v \sim a^{1/2}$, ce qui retrouve les résultats expérimentaux.

La solution v_1 est stable, v_2 est instable. Soit la vitesse v_1 accrue d'une faible quantité. Alors, comme il découle de la figure 11.15, le potentiel en point médian de l impulsion se réduit en devenant inférieur à la valeur de seuil φ'. L'influx s'en trouve ralenti. Si v_1 diminue, le potentiel en point antérieur dépassera le seuil et l'influx se trouvera accéléré. Pour v_2 on voit se vérifier les relations inverses.

En tenant compte des valeurs expérimentales des paramètres pour l'axone du calmar ($r_m = 6{,}37 \cdot 10^3$ ohm·cm), on obtient $v_1 = 21$ m/s en très bon accord avec l'expérience.

La théorie montre donc que la vitesse de propagation de l'influx est déterminée par les paramètres électriques et géométriques de l'axone, sans qu'on ait besoin, pratiquement, de prendre en considération la forme de l'impulsion de départ. La théorie fournit également des solutions pour les fibres de section variable et pour les fibres ramifiées. Les mêmes auteurs ont développé une théorie de l'interaction des fibres nerveuses dans les faisceaux et les troncs, ainsi qu'une théorie de la propagation de l'excitation dans les syncytia.

§ 11.3. Génération de l'influx

La caractéristique tension-courant de la membrane de l'axone est bien originale. Etant non linéaire, elle comporte, en plus, une portion à pente négative (fig. 11.16, *a*). C'est le résultat de ce que les conductances sodique et potassique dépendent du potentiel sur la membrane.

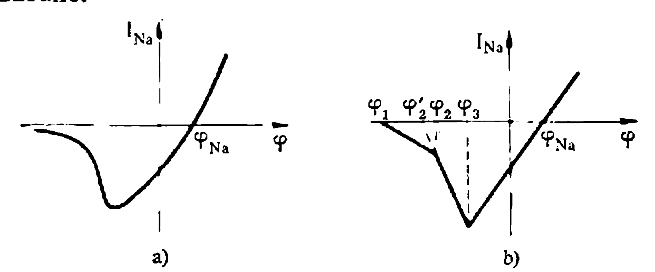


Fig. 11.16. Caractéristique tension-courant expérimentale (*a*) et son approximation par une ligne brisée (*b*)

Examinons l'apparition du potentiel d'action dans une portion homogène de l'axone. Comme, au cours de la première étape de la dépolarisation, la conductance potassique est très faible, nous poserons le courant ionique égal à la somme de I_{Na} et du courant de fuite I_Y. Le courant de fuite est donné, conformément à la loi d'Ohm, par la différence du potentiel ψ et du potentiel de repos ψ_0, divisée par la résistance de la membrane:

$$I_Y = \frac{\psi - \psi_0}{R} \equiv \frac{\varphi}{R}.$$

Pour exprimer de façon approchée la dépendance de I_{Na} avec le temps, nous utiliserons un puits rectangulaire en considérant que le courant à valeur constante I_{Na} existe durant l'intervalle temporel séparant l'instant t^* (la pointe) de l'instant t_3 (décroissance du courant de sodium). En dehors de ce temps $I_{Na} = 0$.

Des expériences conduites avec un potentiel fixe montrent que la fonction I_{Na} (φ) n'est pas linéaire ou, plus exactement, c'est la fonction g_{Na} (φ) qui ne l'est pas. Cependant, lors d'un saut instantané de potentiel, la conductibilité g_{Na} n'a pas le temps de changer et alors, ainsi que l'ont démontré les expériences de Hodgkin et Huxley, I_{Na} dépend linéairement de $\varphi - \varphi_{Na}$:

$$I_{Na} = g_{Na} (\varphi - \varphi_{Na}). \qquad (11.17)$$

Remplaçons la courbe expérimentale de I_{Na} (φ) représentée sur la figure 11.16, *a* par une ligne brisée avec des valeurs absolues disrcètes de la conductance (fig. 11.16, *b*):

$$\left|\frac{dI_{Na}}{d\varphi}\right| = \begin{cases} g_1, \text{ lorsque } \varphi_1 < \varphi < \varphi_2, \\ g_2, \text{ lorsque } \varphi > \varphi_2. \end{cases} \qquad (11.18)$$

La caractéristique tension-courant du courant sodique de pointe est décrite par les formules

$$I_{Na} = \begin{cases} 0, & \varphi < \varphi_1, \\ -g_1(\varphi - \varphi_1), & \varphi_1 < \varphi < \varphi_2, \\ -g_2(\varphi - \varphi_2'), & \varphi_2' < \varphi < \varphi_3, \\ g_2(\varphi - \varphi_{Na}), & \varphi > \varphi_3, \end{cases} \qquad (11.19)$$

étant donné que $g_1 < g < g_2$, où $g = R^{-1}$. Si la membrane est excitée par un courant continu provenant d'une source de tension $\tilde{\varphi}$, on a $I = g\tilde{\varphi}$. Considérons maintenant la réaction de la membrane à une telle excitation.

Lorsque $\tilde{\varphi} < \varphi_1$, $I_{Na} = 0$. L'équation pour le courant membranaire $I_m = C\,\partial\varphi/\partial t + I_Y$ prend la forme

$$C\frac{d\varphi}{dt} = g(\tilde{\varphi} + \varphi_0 - \varphi). \qquad (11.20)$$

Sa solution

$$\varphi - \varphi_0 = \tilde{\varphi}\,[1 - \exp(-gt/C)] \qquad (11.21)$$

décrit le comportement passif de la membrane, lorsque les stimulus sont sous-liminaires. La valeur du stimulus $\tilde{\varphi} = RI$ définit la limite de l'accroissement de φ. Si le courant de stimulation est coupé à l'instant $t = t_0$, il vient

$$C\frac{d\varphi}{dt} = g(\varphi_0 - \varphi) \qquad (11.22)$$

avec la condition initiale

$$\varphi(t_0) = \varphi_0 + \tilde{\varphi}\,[1 - \exp(-gt_0/C)].$$

La résolution donne une tension qui décroît rapidement:

$$\varphi - \varphi_0 = \tilde{\varphi}\,[\exp(gt_0/C) - 1]\exp(-gt/C). \qquad (11.23)$$

Si le courant de stimulation est suffisamment grand, il vient un instant $t = t_1$, où le potentiel croissant atteint la valeur φ_1. Lorsque $t \geqslant t_1$,

$$C\frac{d\varphi}{dt} = g\tilde{\varphi} - g(\varphi - \varphi_0) + g_1(\varphi - \varphi_1). \qquad (11.24)$$

La solution de (11.24) a la forme

$$\varphi-\varphi_0=\tilde{\varphi}+\frac{\tilde{\varphi}-(\varphi_1-\varphi_0)}{g-g_1}\left\{g_1-g\exp\left[-\frac{g-g_1}{C}(t-t_1)\right]\right\}. \quad (11.25)$$

Elle définit l'accroissement exponentiel de $\varphi-\varphi_0$ jusqu'à la valeur

$$\varphi_\infty-\varphi_0=\tilde{\varphi}+\frac{g_1}{g-g_1}[\tilde{\varphi}-(\varphi_1-\varphi_0)]. \quad (11.26)$$

La réponse locale déterminée par la différence entre le décalage de potentiel observé et la réponse passive correspondante est trouvée en soustrayant (11.21) de (11.25). La réponse locale a une forme en S en accord avec l'expérience (fig. 11.17).

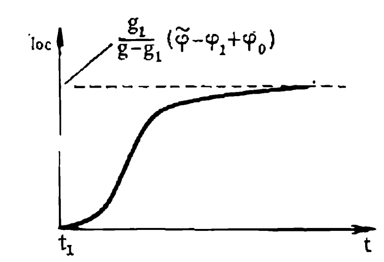


Fig. 11.17. Réponse locale en fonction du temps

Fig. 11.18. Décalage du potentiel membranaire en fonction du stimulus appliqué

Après avoir exclu $\exp(-gt_1/C)$ de (11.25) (on le fait en utilisant la relation (11.21)) pour $t=t_1$, soit

$$\varphi_1-\varphi_0=\tilde{\varphi}[1-\exp(-gt_1/C)],$$

on obtient

$$\varphi-\varphi_0=\tilde{\varphi}+\frac{\tilde{\varphi}-(\varphi_1-\varphi_0)}{g-g_1}\left[g_1-g\exp\left(-\frac{g-g_1}{C}t\right)\times\right.$$

$$\left.\times\left(\frac{\tilde{\varphi}}{\tilde{\varphi}-\varphi_1+\varphi_0}\right)^{\frac{g-g_1}{g}}\right]. \quad (11.27)$$

La dépendance de φ avec le stimulus $\tilde{\varphi}$ est non linéaire. La courbe de $\varphi(\tilde{\varphi})$ représentée sur la figure 11.18 coïncide avec la courbe expérimentale.

Comme on le voit, le modèle semi-empirique considéré met en évidence les traits principaux de la réponse locale : sa dépendance en S du temps et sa dépendance non linéaire de la valeur du stimulus. Ces traits sont conditionnés par l'apparition d'un courant passant à travers la membrane, courant déterminé par l'existence d'une conductance différentielle négative, dont la valeur absolue g_1 est inférieure à la conductance membranaire g.

Si la limite $\varphi_\infty-\varphi_0$, vers laquelle tend le décalage de potentiel, est plus élevée que φ_2, le système se trouve dans un domaine où le courant de Na est déterminé par la conductance différentielle négative et où $g_2>g$. Comme $g>g_1$, on peut considérer que $g_2\gg g_1$. La variation du potentiel membranaire

est décrite par l'équation

$$C\frac{d\varphi}{dt}=g\tilde{\varphi}-g(\varphi-\varphi_0)+g_2(\varphi-\varphi_2). \qquad (11.28)$$

Lorsque le stimulus est durable, l'instant t_2 à partir duquel cette équation est valable coïncide avec la partie ascendante du potentiel que décrit l'équation (11.25). La solution de l'équation (11.28) est la suivante:

$$\varphi=-\frac{g}{g_2-g}(\tilde{\varphi}+\varphi_0)+\frac{g_2}{g_2-g}\varphi_2+\left[\varphi(t_2)+\frac{g}{g_2-g}(\tilde{\varphi}+\varphi_0)-\right.$$
$$\left.-\frac{g_2}{g_2-g}\varphi_2\right]\exp\left[\frac{g_2-g}{C}(t-t_2)\right]. \qquad (11.29)$$

L'exposant de la fonction exponentielle est positif; φ croît ou décroît en fonction du signe du facteur pré-exponentiel. Si à l'instant t_2 le potentiel est égal à φ_2,

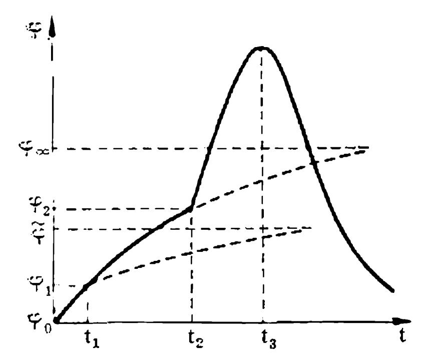


Fig. 11.19. Evolution du potentiel membranaire dans le temps sous l'effet d'un courant d'excitation durable d'intensité surliminaire:
t_1 — déclenchement de la réponse locale, t_2 — branchement du courant de Na, t_3 — coupure du courant de Na

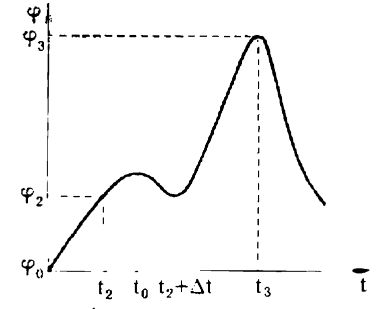


Fig. 11.20. Evolution du potentiel membranaire dans le temps lors de l'excitation par une impulsion de courant continu

ce facteur est positif à condition que $\tilde{\varphi} > \varphi_2 - \varphi_0$. Le potentiel croît jusqu'à l'instant $t = t_3$, où l'inactivation de la membrane fait baisser le courant de Na. Si le stimulus n'agit plus à ce moment, le comportement du système est décrit par l'équation

$$C\frac{d\varphi}{dt}=-g(\varphi-\varphi_0)$$

avec, comme solution,

$$\varphi-\varphi_0=[\varphi(t_3)-\varphi_0]\exp\left[-\frac{g}{C}(t-t_3)\right].$$

Le potentiel baisse de façon exponentielle jusqu'au niveau du potentiel de repos φ_0. Toute l'allure de $\varphi(t)$ est représentée par la courbe de la figure 11.19.

La situation se présente autrement, lorsque le stimulus est peu durable (t_0). Supposons que l'action du stimulus cesse déjà au cours de l'étape isotonique de l'évolution du potentiel membranaire. A l'instant t_2 le potentiel $\varphi = \varphi_2$, mais le courant de sodium ne peut être déclenché qu'au bout d'un certain temps Δt. Or, pendant ce temps l'action du stimulus a cessé et le potentiel s'est mis à

diminuer. Si, vers l'instant $t = t_2 + \Delta t$, il n'est pas devenu inférieur à φ_2, soit

$$\varphi(t_2+\Delta t)=\varphi_0+\tilde{\varphi}\left[\exp\left(\frac{g}{C}t_0\right)-1\right]\exp\left[-\frac{g}{C}(t_2+\Delta t)\right]\geqslant\varphi_2, \qquad (11.30)$$

le courant de Na se déclenche en engendrant le potentiel d'action et le potentiel évolue selon la figure 11.20.

On peut tirer de l'équation (11.30) la relation entre l'intensité de courant I et la durée de son action, qui retrouve quantitativement l'expérience.

On a démontré en partant du modèle adopté que l'évolution du potentiel d'action sur la membrane de l'axone débute à l'instant où le potentiel membranaire atteint le niveau, pour lequel la conductance est négative et supérieure en valeur absolue à la conductance de la membrane.

§ 11.4. Canaux ioniques

Les modèles théoriques de la génération de l'influx, exposés ci-dessus, sont phénoménologiques et n'expliquent pas les mécanismes moléculaires correspondants.

De quelle façon les ions traversent-ils donc la membrane de l'axone (cf. § 10.6)? Est-ce à l'aide de carriers spéciaux ou bien en utilisant des canaux dans la membrane? L'expérience tranche cette alternative en faveur des canaux. En l'absence d'ions pénétrants Na^+ et K^+ la conductance haute fréquence de la membrane est nulle. S'il y avait des groupements chargés mobiles, on observerait un courant électrique. Il est possible d'évaluer les caractéristiques quantitatives des canaux, dont le nombre par 1 μm^2 de la membrane atteint plusieurs centaines. La conductance d'un canal à sodium est de $4\cdot10^{-12}$ ohm $^{-1}$, celle d'un canal à potassium $12\cdot10^{-12}$ ohm^{-1}. Le débit du premier est de l'ordre de 10^7 ions par seconde, celui du second s'élevant à quelque 10^6 ions/s. Néanmoins, on ne sait pas encore très bien ce qu'est un canal du point de vue de sa structure. On peut dire qu'un canal ionique est une sorte d'« enzyme vectoriel » catalysant le transfert de l'ion. L'activité de cet « enzyme » (complexe lipoprotéique), soumis à des réorganisations conformationnelles (kinks, p. 353), est contrôlée par le champ électrique.

L'échange ionique par l'intermédiaire des canaux constitue la source d'énergie pour la propagation de l'influx. A l'origine de ce processus on trouve la pompe à sodium qui fonctionne en utilisant l'énergie de l'ATP (§ 10.5).

Les canaux ioniques sont hautement sélectifs. Il est cependant possible, en bloquant les canaux à K par du tétraéthylammonium, de « contraindre » les canaux à sodium de transporter d'autres cations. La chose est également possible dans le cas des canaux à potassium. On trouvera dans le tableau 11.2 les perméabilités relatives des canaux vis-à-vis de quelques cations différents. Ce tableau illustre la sélectivité des canaux. La section des canaux à Na, déduite de ces données, est de l'ordre de 0,3·0,5 nm^2. On observe des écarts importants des perméabilités vis-à-vis d'ions de dimensions voisines. L'hydroxylamine $H_3N^+—OH$ et l'hydrazine $H_3N^+—NH_2$ passent

Tableau 11.2

Perméabilités relatives des canaux à Na et à K des nœuds de Ranvier pour les cations monovalents (Hille, 1972)

Ion	Rayon cristallographique de l'ion, nm	P_{ion}/P_{Na} dans le canal à Na	P_{ion}/P_K dans le canal à K
Lithium	0,120	0,93	0,018
Sodium	0,190	1,00	0,010
Potassium	0,266	0,09	1,00
Thallium	0,280	0,33	0,300
Rubidium	0,296	—	0,910
Ammonium	0,300	0,16	0,130
Hydroxylamine	0,330	0,94	0,025
Hydrazine	0,333	0,59	0,029
Césium	0,338	—	0,077

à travers le canal à sodium, alors que la méthylamine $H_3N^+—CH_3$ n'y passe pas. Selon Hille, dans la partie la plus étroite du canal il y aurait des atomes d'oxygène, dont un porterait une charge négative. Les cations à groupes OH et NH_2 glisseraient à travers le canal en formant des liaisons hydrogène avec O^-, alors que le groupe CH_3 en est incapable. Les ions traversent le canal l'un après l'autre.

Une molécule de tétrodotoxine (venin du poisson japonais fugu, *Spheroides porphyreus*) ou de saxitoxine (substance toxique du plancton rouge *Gonyaulax*) bouche le canal à sodium. Ces toxines paralysent ainsi la conduction nerveuse. En les utilisant, on a pu déterminer le nombre de canaux par unité d'aire de la membrane et étudier le « *courant de gate* » (voir plus loin).

Hodgkin et Huxley ont établi une dépendance exponentielle entre la variation initiale du potentiel membranaire φ et la valeur de pointe de g_{Na}. A la variation de φ de 4 à 6 mV dans le sens de la dépolarisation correspond une augmentation de g_{Na} e fois plus élevée. On peut croire que cette variation résulte de l'effet du champ électrique sur la disposition de certains ions dans le canal. En posant la conductance g_{Na} proportionnelle à la fraction de ces ions déplacée par le champ, on a

$$g_{Na} = \frac{g_{Na,\,max}}{1 + b\exp(-z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT)}, \qquad (11.31)$$

où z est la valence de l'ion hypothétique, α le nombre qui exprime la fraction de la tension φ agissant sur l'ion, b un facteur indépendant de φ. La valeur expérimentale moyenne de $z\alpha$, prise sur plusieurs données différentes, est égale à 3,5. Hodgkin et Huxley sup-

posaient que ces ions hypothétiques déterminaient l'activation et l'inactivation des canaux à Na et K. Ce seraient les ions Ca^{2+}. En effet, la variation de la concentration en Ca^{2+} se répercute très sensiblement sur l'excitabilité des cellules nerveuses et musculaires. Il existe un modèle théorique qui explique quantitativement la forme de la courbe de $g_{Na}(\varphi)$ et le déplacement de cette courbe parallèlement à la variation de la concentration en ions Ca^{2+} qui bloquent les canaux. On suppose que la membrane comporte des particules activantes qui s'y trouvent dans un des deux états, A ou B, les transitions $A \rightleftarrows B$ correspondant à un certain travail dans le champ électrique. Ces transitions peuvent consister dans le déplacement d'une molécule chargée, dans la rotation d'un dipôle ou dans le changement de conformation d'une macromolécule. Dans l'état A la particule forme le complexe A·Ca avec Ca^{2+}, dans l'état B elle favorise le passage des ions Na^+ à travers le canal. Le modèle répond au schéma

$$A\cdot Ca \rightleftarrows Ca^{2+} + A \rightleftarrows Ca^{2+} + B.$$

La résolution des équations cinétiques correspondantes donne

$$\ln [Ca^{2+}] - \frac{z\alpha\varphi\mathcal{F}}{RT} = \text{const}, \qquad (11.32)$$

et la quantité $\Delta\varphi$ vaut $RT/(z\alpha\mathcal{F})$, lorsque la concentration en Ca^{2+} varie de e fois; cela donne 7 mV pour $z\alpha = 3{,}5$, en bon accord avec l'expérience.

Des représentations analogues permettent de définir, également, l'inactivation de la membrane.

L'expérience montre que la variation de la conductance de la membrane de l'axone, son excitation, s'accompagne effectivement de changements de structure. On a observé des variations de la diffusion de la lumière (Cohen, Hille, Keynes), de la fluorescence (Tasaki et col.), de la biréfringence de la membrane (Berestovski), provoquées par la variation de φ. Ermichkine a étudié les propriétés des canaux isolés.

Armstrong et Bezanilla ont obtenu des preuves directes du déplacement, sous l'effet du champ, de particules chargées faisant partie de la structure de la membrane.

La restructuration du canal lors de la variation du champ électrique extérieur se manifeste par la présence d'une composante supplémentaire du courant de déplacement, dite « *courant de gate* ». Les mesures ont été faites sur les axones, dont le milieu intérieur était remplacé par une solution sans potassium, alors qu'on débarrassait le milieu extérieur des ions sodium. La conductance des canaux était supprimée à la tétrodotoxine. Un dispositif d'accumulation était utilisé pour niveler les grandes fluctuations. L'expérience consistait à appliquer une impulsion rectangulaire positive à une fibre,

préalablement hyperpolarisée jusqu'à —90 ou —100 mV. Au début et à la fin de l'impulsion on observait des courants transitoires dirigés vers l'extérieur et vers l'intérieur de l'axone. Pour tenir compte du courant de charge de la capacité, on effectuait des mesures analogues pour une impulsion négative de tension. On additionnait algébriquement les résultats des deux expériences. C'est ainsi qu'on dégageait une petite composante asymétrique du courant de déplacement, le courant de gate. Ce courant est une fonction exponentielle du temps, son temps de relaxation est proche du temps de relaxation de la variable m dans le modèle de Hodgkin-Huxley (p. 389). Voilà pourquoi on peut affirmer que le courant de gate est effectivement lié aux particules ouvrant et fermant le canal à sodium. On a aussi obtenu d'autres données qui corroborent cette idée.

§ 11.5. Transmission synaptique

Lorsque l'influx arrive au bout de l'axone, il produit son effet dans la plaque motrice (jonction myoneurale) en induisant la contraction musculaire, ou bien passe sur une autre fibre nerveuse. Dans les deux cas il s'agit de la transmission synaptique de l'influx. Le synapse est le contact intermembranaire fonctionnel de deux cellules excitables.

La biologie moderne dispose d'une riche information sur la transmission synaptique. Si ces données ne suffisent pas encore pour édifier une théorie moléculaire, elles permettent de tracer les voies de son développement.

La distance entre les membranes présynaptique et postsynaptique — la *fente synaptique* — peut atteindre 15 à 20 nm. Dans la jonction myoneurale l'écart est encore plus grand: 50 à 100 nm. Mais il existe des synapses avec les membranes pré et postsynaptiques très rapprochées, voire réunies. Cela correspond à deux types de transmission. Dans le cas de grandes fentes la transmission est chimique, dans celui du contact intime une interaction électrique directe est possible. Ici nous parlerons de la transmission chimique.

Lors de la transmission chimique l'influx qui est parvenu au bout de la fibre déclenche un mécanisme chimique qui amplifie le signal électrique. Ce mécanisme consiste à libérer une certaine substance dite *médiateur*, synthétisée et stockée dans les terminaisons nerveuses, à la recevoir au niveau des centres spécifiques de la membrane postsynaptique et à faire varier la perméabilité de cette dernière, ce qui fait naître un nouvel influx. C'est l'*acétylcholine* (AC)

$$\begin{array}{l} H_3C \\ \quad\diagdown \\ H_3C - N^+ - CH_2 - CH_2 - O - CO - CH_3 \\ \quad\diagup \\ H_3C \end{array}$$

et autres composés apparentés qui servent avant tout de médiateurs. L'AC se concentre dans les vésicules des terminaisons présynaptiques. Le mécanisme présynaptique est une neurosécrétion: libération d'acétylcholine des vésicules sous l'action de l'influx nerveux. Le nombre de molécules d'acétylcholine libérées par un influx est estimé à plusieurs millions.

La membrane postsynaptique d'une jonction myoneurale présente une concentration élevée en *acétylcholine-estérase* (ACE),

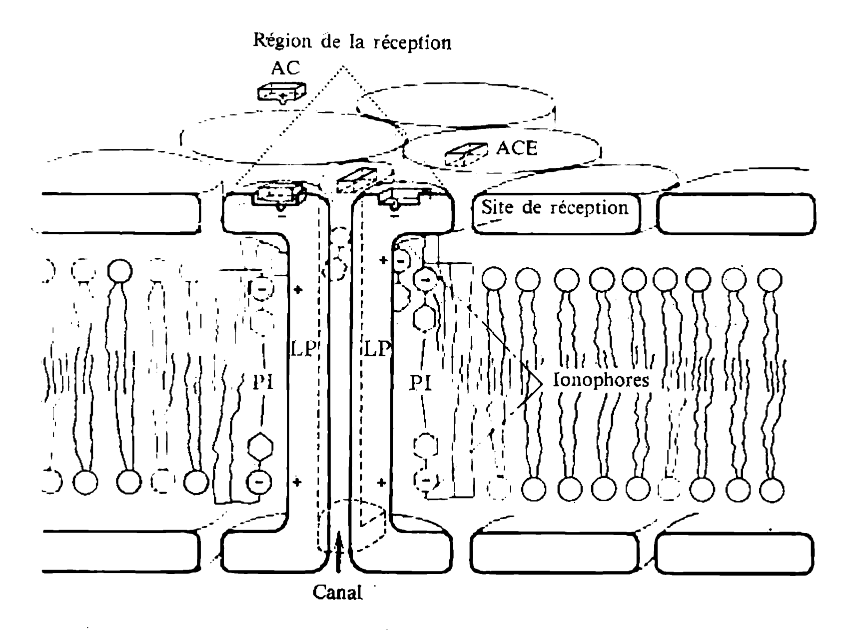


Fig. 11.21. Organisation macromoléculaire de la membrane **postsynaptique** d'après De **Robertis**

LP — lipoprotéine, PI — phosphatidylinositol, AC — acétylcholine, ACE — **acétylcholine-estérase**

enzyme catalysant l'hydrolyse de l'AC. Il a été montré que la substance réceptrice est une protéine hydrophobe spéciale. Cette protéine a été isolée des membranes des terminaisons nerveuses. Elle se caractérise par une grande affinité pour l'AC et autres substances cholinergiques. De Robertis a proposé un modèle de la membrane postsynaptique (fig. 11.21). La membrane comporte des régions réceptrices discrètes. La protéine de réception qui a une surface hydrophobe traverse les couches lipidiques de la membrane en y laissant des canaux. Les parois du canal sont formées par quatre molécules protéiques parallèles. L'acétylcholine-estérase y est présente sous forme d'une molécule isolée. L'acétylcholine se fixe sur le site actif de la protéine réceptrice, situé sur sa face extérieure. Cette fixation

qui est une interaction ionique forte provoque des transformations conformationnelles et translationnelles dans la membrane, qui modifient sa perméabilité ionique.

Le rôle de l'ACE consiste principalement à hydrolyser l'acétylcholine. Si l'AC n'était pas hydrolysée, elle bloquerait l'ACE et la transmission synaptique n'aurait pas lieu. C'est ainsi qu'agissent les inhibiteurs compétitifs de l'ACE, dont, particulièrement, le poison végétal curare et autres alcaloïdes. L'innervation des muscles est bloquée en conséquence.

Comme cela a été démontré expérimentalement, le médiateur — l'acétylcholine — provoque effectivement un accroissement de la perméabilité de la plaque terminale d'une jonction myoneurale aux ions Na^+ et K^+; cet accroissement est simultané et a la même valeur dans les deux cas. L'acétylcholine n'a aucun effet sur la perméabilité aux ions Cl^-. Electriquement, l'action du médiateur est analogue à un perçage instantané de la membrane.

Retournons à la région présynaptique. Selon certaines données, de petites quantités d'acétylcholine sont libérées à l'état de repos, en l'absence de l'influx nerveux. L'influx amplifie très sensiblement cette activité en un temps de l'ordre de 1 ms. La neurosécrétion spontanée n'est pas due à la fuite d'AC des terminaisons nerveuses par une diffusion accidentelle. Il s'agit là d'une libération quantifiée de l'acétylcholine à partir de certains points discrets de la membrane terminale de l'axone qui se produit à des intervalles aléatoires selon le principe de « tout ou rien ». Le « quantum » d'acétylcholine est toujours le même, indépendamment des modifications de la membrane provoquées par l'influx nerveux. L'influx fait croître, de plusieurs centaines de milliers de fois, la probabilité de libération d'un quantum. Le potentiel de la membrane postsynaptique, engendré par l'influx, se compose d'un grand nombre de « potentiels minuscules » créés par les portions isolées, les quanta d'acétylcholine. Le nombre de quanta intervenant dans la réaction dans une jonction myoneurale dépend de la présence de Ca^{2+} et Mg^{2+}: les ions Ca^{2+} stimulent la sécrétion de l'acétylcholine, les ions Mg^{2+} l'inhibent.

Il est prouvé que chaque réaction à une impulsion est constituée par un nombre entier de « quanta » d'AC, la libération d'un « quantum » étant un événement bien peu probable ($p \ll 1$). Le nombre d'impulsions libérant x portions (« quanta ») d'AC serait fourni par la loi de Poisson

$$p_x = \frac{m^x}{x!} e^{-m},$$

où $x = 0, 1, 2, \ldots$ est le nombre de portions d'AC, m le nombre moyen de portions libérées par une impulsion. Dans le système considéré

$$m = \frac{\text{Amplitude moyenne de la réponse}}{\text{Amplitude moyenne des potentiels spontanés}} = \frac{0{,}933 \text{ mV}}{0{,}4 \text{ mV}} = 2{,}33.$$

La coïncidence des valeurs calculées et observées de p_x s'est avérée parfaite. La loi de Poisson donne, en particulier,

$$p_0 = \frac{n_0}{N} = e^{-m},$$

où n_0 est le nombre de réponses nulles égal à 18 dans la série en question, N le nombre total d'impulsions qui était égal à 198;

$$m = \ln \frac{N}{n_0} = \ln \frac{198}{18} = 2,4,$$

alors que la valeur expérimentale est 2,33.

La « quantification » de l'acétylcholine libérée fait penser que la neurosécrétion est un processus moléculaire coopératif que l'on

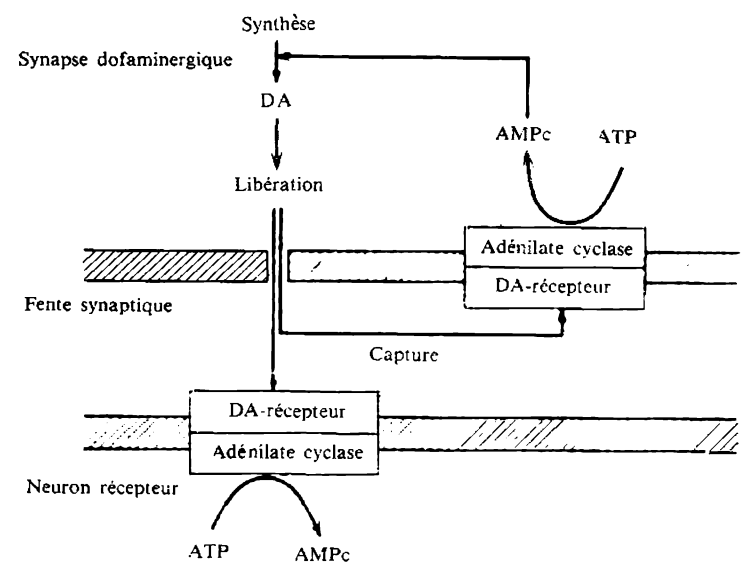


Fig. 11.22. Formation de l'AMPc dans les régions post et présynaptiques après libération de dofamine (DA)

pourrait traiter sur la base des interactions électrono-conformationnelles. Les mêmes idées peuvent s'avérer utiles pour comprendre, comment un nouvel influx apparaît en réponse à l'effet du médiateur. Il n'est pas impossible de construire des modèles cinétiques correspondants, mais l'information qu'on possède sur la structure moléculaire des systèmes synaptiques est encore insuffisante.

A côté de l'acétylcholine il existe également d'autres neuromédiateurs. Ce sont adrénaline, noradrénaline, dofamine, etc. La fixation de l'AC sur le récepteur provoque l'ouverture des canaux ioniques, par lesquels les ions Na^+ entrent dans la cellule et les ions K^+

en sortent. Certains autres neuromédiateurs ne modifient pas les flux ioniques, mais activent l'adénylate-cyclase liée à la membrane. Cet enzyme provoque la formation de l'AMP cyclique qui active à son tour la protéine-kinase. La figure 11.22 présente le schéma de la formation de l'AMPc dans les régions post et présynaptiques après libération de dofamine. Ce schéma est dû à Natanson (1977).

La dofamine

OH

OH

$CH_2-CH_2-NH_2$

joue un rôle important dans la physiologie du cerveau : son absence provoque la maladie de Parkinson. Il existe aussi des hypothèses, selon lesquelles la schisophrénie serait le fait d'une formation surabondante de dofamine.

Les problèmes de la transmission synaptique sont liés à l'étude des réseaux neuroniques qu'on utilise pour simuler l'activité nerveuse supérieure. Les modèles qui existent actuellement ont préférentiellement un caractère mathématique.

En même temps, au cours de ces dernières années on a isolé du cerveau de vertébrés des peptides courts, encéphalines et endorphines, qui agissent en tant que neuromédiateurs ou neurohormones influant sur l'activité des neurones. La Met-encéphaline a pour formule

Tyr-Gly-Gly-Phe-Met.

Dans la Leu-encéphaline la méthionine est remplacée par la leucine.

Dans les neurones de l'hypothalamus on a trouvé d'autres peptides qui stimulent ou inhibent les neurones. Ces « releasing factors » induisent la formation d'un second médiateur AMPc.

L'étude ultérieure de la transmission synaptique et des effets chimiques sur les neurones doit permettre de créer la théorie moléculaire de l'activité nerveuse supérieure. Cette théorie n'existe pas encore et on n'a aucune idée précise de la nature de la mémoire et de la pensée.

CHAPITRE 12

PROCESSUS MÉCANOCHIMIQUES

§ 12.1. Thermodynamique des processus mécanochimiques

Dans les chapitres précédents nous avons raconté, comment l'énergie chimique que la cellule met en réserve dans les molécules d'ATP, se transforme en travail osmotique et électrique. Maintenant nous nous pencherons sur les processus mécanochimiques transformant l'énergie chimique en travail mécanique.

La vie est impensable sans le mouvement mécanique. Les cellules et les organismes exécutent un travail mécanique en se déplaçant comme un tout et en déplaçant leurs parties fonctionnelles dans le champ de pesanteur, en surmontant la résistance du milieu aérien ou aqueux, etc. Le travail mécanique est réalisé dans des conditions isothermiques et isobariques. Il s'effectue donc en utilisant non pas l'énergie thermique, mais l'énergie chimique.

Les transformations conformationnelles des protéines impliquent un déplacement spatial des atomes formant les macromolécules. Si cela se produit dans le champ de forces extérieures, un travail mécanique est exécuté. Il peut avoir pour source l'énergie libre dégagée au cours d'une réaction enzymatique. On peut donc interpréter la transformation conformationnelle d'une protéine comme un processus mécanochimique. Mais une telle interprétation n'a aucun sens, tant qu'il s'agit d'une réaction enzymatique en solution. Le déplacement d'atomes se produit dans toute réaction chimique, mais ce n'est pas une raison suffisante pour pouvoir la baptiser « processus mécanochimique ».

Le terme de travail mécanique ne s'applique qu'aux systèmes supramoléculaires, macroscopiques. Si les molécules d'un enzyme entrent dans la composition d'un tel système, ce dernier pourra, étant dûment organisé, effectuer un mouvement mécanique et produire un travail avec l'énergie libre de la réaction enzymatique. Par conséquent, les protéines-enzymes peuvent servir de corps moteurs dans les systèmes mécanochimiques des organismes vivants. Qui plus est, ces corps ne peuvent être autres que les enzymes. C'est l'énergie chimique qui constitue la source du travail mécanochimique. Or, toute réaction biochimique fait intervenir des enzymes. La méca-

nochimie des systèmes vivants est une mécanochimie enzymatique.

Un processus mécanochimique peut être exécuté par une machine à fonctionnement cyclique, retrouvant son état initial après chaque cycle. Les passages des corps moteurs d'un potentiel chimique à un autre, avec exécution parallèle de travail, se produisent dans le milieu extérieur à la machine. Cette machine peut être, par exemple, une fibre polymère, polyélectrolytique, dont la longueur varie en fonction du pH du milieu.

La variation totale de l'énergie interne du système

$$dE = T\,dS - dW + \sum_i \mu_i\,dn_i + \psi\,de + \ldots \qquad (12.1)$$

Ici dW est le travail fourni par le système, dn_i la quantité de substance i qui passe du réservoir dans le système avec le potentiel chimique μ_i, $\psi\,de$ le travail électrique. Nous nous limiterons aux phénomènes thermiques, mécaniques et chimiques, en faisant abstraction de $\psi\,de$ et des termes suivants de l'équation. On considérera une fibre uniforme de longueur l, étendue par la force f. On a

$$dE = T\,dS - p\,dV + f\,dl + \sum_i \mu_i\,dn_i. \qquad (12.2)$$

La forme intégrale de cette équation est

$$E = TS - pV + fl + \sum_i \mu_i n_i + \mu_q n_q, \qquad (12.3)$$

où n_q est le nombre de molécules formant la fibre.

Supposons qu'il n'y a qu'une seule composante réagissante. Alors, à p et T constants, le système possède deux degrés de liberté; mettons que c'est f et μ. On peut représenter le cycle de fonctionnement de la machine mécanochimique sur le plan f, l. A chaque valeur de μ correspondra une courbe $l\,(f)$ que l'on peut nommer *isopotentiel* (par analogie avec l'isotherme sur le plan p, V pour la machine thermique). Il est possible de déterminer tous les points de cette courbe à l'aide d'une expérience mécanique conduite à une valeur constante de μ. La courbe $l\,(f)$ à n constant est, par contre, analogue à une adiabatique. Une telle courbe est dite *isophore*. Sur le plan μ, n les isopotentiels et les isophores seront représentés par des droites parallèles aux axes de coordonnées (fig. 12.1). Les courbes $\mu\,(n)$ sur ce plan seront *isotoniques* à force constante et *isométriques* à longueur constante d'échantillon.

Le cycle sur le plan f, l est représenté sur la figure 12.2. L'expression pour le travail

$$W = -\oint f\,dl = \int_1 \mu\,dn + \int_2 \mu\,dn = (\mu_1 - \mu_2)\,\Delta n \qquad (12.4)$$

y est analogue à celle du cycle de Carnot

$$W = \oint p\,dV = (T_1 - T_2)\,\Delta S.$$

La différence essentielle consiste en ce que la machine mécanochimique ne peut être caractérisée par son rendement tel que

$$\eta_{\text{therm}} = (T_1 - T_2)/T_1,$$

car le potentiel chimique n'a pas de zéro absolu. Le rendement d'un processus mécanochimique peut être représenté par le rapport du

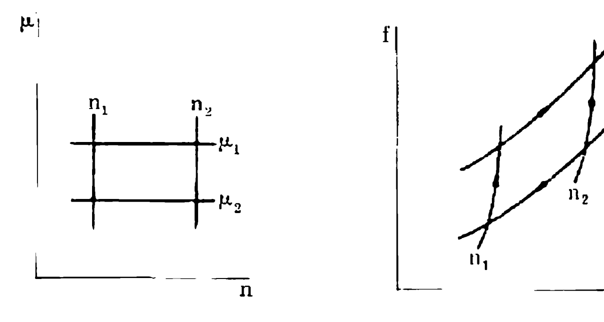


Fig. 12.1. Cycle mécanochimique sur le plan μ, n

Fig. 12.2. Cycle mécanochimique sur le plan f, l

travail produit dans le cycle réel au travail du cycle réversible idéal :

$$\eta' = -\oint f\,dl \Big/ \oint \mu\,dn. \tag{12.5}$$

Passons à la thermodynamique du non-équilibre. L'extension d'une fibre polymère mécanochimique dans les processus isobarique et isothermique donne la variation d'énergie libre

$$(dG)_{T,p} = f\,dl - \mathcal{A}\,d\xi, \tag{12.6}$$

$\mathcal{A}$ étant l'affinité et ξ la coordonnée de la réaction chimique. L'équation (12.6) définit la force mécanochimique interne et l'affinité :

$$f = \left(\frac{\partial G}{\partial l}\right)_{\xi,\,p,\,T}, \tag{12.7}$$

$$\mathcal{A} = -\left(\frac{\partial G}{\partial \xi}\right)_{l,\,p,\,T}. \tag{12.8}$$

A l'équilibre ces quantités sont nulles. Il vient

$$\left(\frac{\partial G}{\partial l}\right)_\xi = f = \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l^2}\right)_\xi^{\text{eq}} \delta l + \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l\, \partial \xi}\right)^{\text{eq}} \delta\xi = \left(\frac{\partial f}{\partial l}\right)_\xi \delta l + \left(\frac{\partial f}{\partial \xi}\right)_l \delta\xi,$$

$$\left(\frac{\partial G}{\partial \xi}\right)_l = -\mathcal{A} = \left(\frac{\partial^2 G}{\partial \xi\, \partial l}\right)^{\text{eq}} \delta l + \left(\frac{\partial^2 G}{\partial \xi^2}\right)_l^{\text{eq}} \delta\xi = -\left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial l}\right)_\xi \delta l - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi}\right)_l \delta\xi.$$

L'exposant eq correspond ici à l'état d'équilibre; δl, $\delta\xi$ sont les écarts de l et ξ à leurs valeurs d'équilibre. Les relations ci-dessus conduisent à

$$\left(\frac{\partial f}{\partial \xi}\right)_l = \left(\frac{\partial^2 G}{\partial \xi\, \partial l}\right)^{\text{eq}} = -\left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial l}\right)_\xi. \qquad (12.9)$$

Ainsi, si $(\partial f/\partial\xi)_l$ diffère de zéro, l'affinité $\mathcal{A}$ dépend de la longueur l.

Katchalski et Oplatka ont construit une machine à fonctionnement continu où une fibre polyélectrolytique (le collagène) plonge alternativement dans une solution saline (LiBr) et dans de l'eau pure (fig. 12.3). La machine s'arrête, lorsque les potentiels chimiques des deux réservoirs s'égalisent par suite du transfert de petits ions dans l'eau par l'intermédiaire de la fibre. En marche inverse, la machine peut servir à extraire le sel de la solution.

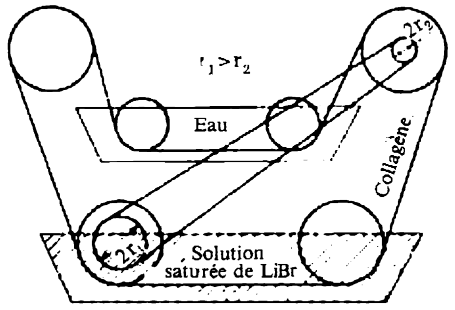


Fig. 12.3. Machine mécanochimique de Katchalski et Oplatka

La fibre polyanionique se contracte, lorsque le pH décroît (par exemple, par addition de HCl). L'augmentation de n_{HCl} conduit à une diminution de l, la force f demeurant constante, soit

$$\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f < 0.$$

Par contre, dans les conditions isométriques l'addition de HCl fait croître la force:

$$\left(\frac{\partial f}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_l > 0.$$

L'effet inverse consiste en variation du pH du milieu entourant la fibre polyanionique soumise à l'extension. Il vient alors

$$-\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f = \left(\frac{\partial \mu}{\partial f}\right)_{n_{\text{HCl}}} > 0.$$

La nature mécanochimique du système contractile biologique a été découverte par Engelhardt et Lioubimova (1939) qui étudiaient

la *myosine*, protéine de la fibre musculaire (v. p. 411). L'addition d'ATP provoque une contraction réversible des fibres myosiniques.

La mécanochimie des polyélectrolytes est déterminée par les transformations conformationnelles des macromolécules, transformations qui sont coopératives. Les constantes de dissociation des groupements ionisables du polymère diffèrent de celles du monomère par suite de la répulsion électrostatique des groupements chargés voisins qui est fonction des conformations de la chaîne. Ces phénomènes sont exprimés par les courbes de titrage potentiométrique (v. § 3.7).

Lorsque les forces f sont suffisamment élevées pour pouvoir orienter la chaîne polyélectrolytique entière, la longueur de la chaîne s'exprime par l'équation (v. § 3.1)

$$\bar{x} = \frac{f}{3kT}\overline{h_0^2}. \qquad (12.10)$$

Le carré moyen de la distance séparant les extrémités de la chaîne $\overline{h_0^2}$ dépend du taux d'ionisation α, i.e. du pH du milieu. Si $d\overline{h_0^2}/d\alpha >> 0$, les chaînes polyélectrolytiques s'allongent lors de l'ionisation sous l'action de la force constante et se contractent, lorsque le taux d'ionisation décroît. Si le signe de la dérivée est négatif, l'effet du pH est contraire. Ce second cas se réalise chez les polypeptides synthétiques: la taille de la pelote diminue avec l'accroissement de α, car l'accroissement du taux d'ionisation détruit la structure hélicoïdale. Dans le cas général

$$\overline{h_0^2} \approx (\overline{h_0^2})_{\alpha=0} \exp\left(-\frac{\alpha^2 \Delta E}{kT}\right), \qquad (12.11)$$

où ΔE est la différence d'énergies d'interaction des charges libres dans les conformations repliée et allongée de la chaîne; ΔE est la mesure de la coopérativité du système: lorsque $\Delta E = 0$, la chaîne n'est pas coopérative, $\overline{h_0^2}$ ne dépend pas de α. Le signe de la dérivée $d\overline{h_0^2}/d\alpha$ dépend du signe de ΔE. La même théorie permet de prévoir, comment le pH du milieu variera lors de l'extension de la chaîne.

Ce mécanisme coopératif n'est pas le seul: il peut y avoir également des phénomènes mécanochimiques polyélectrolytiques déterminés par la variation du degré de couplage des ions.

Les variations conformationnelles de la chaîne provoquées par le changement de l'entourage chimique sous l'action d'une force constante produisent donc un travail mécanique. La force agissante doit, à son tour, modifier les conformations de la chaîne. Selon la théorie, la force appliquée stabilise la conformation hélicoïdale de la chaîne, si elle n'est pas trop élevée. Par contre, une force plus grande stabilise la conformation en pelote très allongée. Dans les chaînes chargées une force extérieure assez faible rend plus élevé le degré de dissociation provoquant la transition hélice-pelote à tem-

pérature fixe. En présence d'une force plus élevée le degré de dissociation qui provoque la transition peut être plus petit qu'en l'absence de la force. Suivant la valeur de la force appliquée, on peut observer, lors de la transition hélice-pelote allongée, une augmentation ou une diminution de la taille de la chaîne dans la direction de la force.

Les systèmes contractiles biologiques qui assurent les processus mécanochimiques ressemblent peu aux modèles polyélectrolytiques simples. Mais les propriétés des polyélectrolytes sont essentielles pour la compréhension des phénomènes mécanochimiques.

On a toutes les raisons pour croire que ce sont les substances macroergiques (avant tout l'ATP) qui constituent la source de l'énergie chimique nécessaire pour les processus biologiques mécanochimiques. L'hydrolyse de l'ATP se produit par l'intervention de l'ATP-ase. Ce sont les protéines contractiles qui servent de corps moteurs dans les processus mécanochimiques. La découverte de l'activité ATP-asique d'une d'elles — de la myosine musculaire — faite par Engelhardt et Lioubimova, est la clef de toute la mécanochimie biologique.

En considérant les processus mécanochimiques biologiques, nous parlerons surtout de la contraction musculaire.

§ 12.2. Structure du muscle et des protéines musculaires

Les vertébrés possèdent trois espèces de muscles: muscles lisses des parois des organes creux, muscles striés du cœur et muscles striés du squelette. L'exposé qui suit se rapporte de préférence à ces derniers.

Les muscles sont constitués de fibres. Il suffit d'un microscope ordinaire pour pouvoir observer la structure striée des fibres musculaires. Une fibre musculaire a un diamètre de 0,02 à 0,08 mm (20 à 80 μm). Elle est entourée d'une membrane d'épaisseur ordinaire (près de 0,01 μm). La fibre comporte 1000 à 2000 fibres plus fines, *myofibrilles*, ayant 1 à 2 μm de diamètre. Les fibrilles ont une enveloppe formée de tubules et de vésicules du *réticulum sarcoplasmique*. La structure microscopique de la myofibrille est montrée sur la figure 12.4. La myofibrille se compose, à son tour, de plusieurs filaments protéiques, gros et fins. Leur coupe transversale présente une symétrie hexagonale (fig. 12.5). La figure 12.6 montre la coupe longitudinale d'une myofibrille et la figure 12.7 sa structure schématique. Les traits noirs de la figure 12.6 (nettement visibles, également, sur la figure 12.4) sont ce qu'on appelle *stries* Z, coupes longitudinales des disques Z. La partie de la myofibrille limitée par deux stries Z est dite *sarcomère*. Le sarcomère se subdivise en plusieurs zones parfaitement visibles au microscope polarisant. La

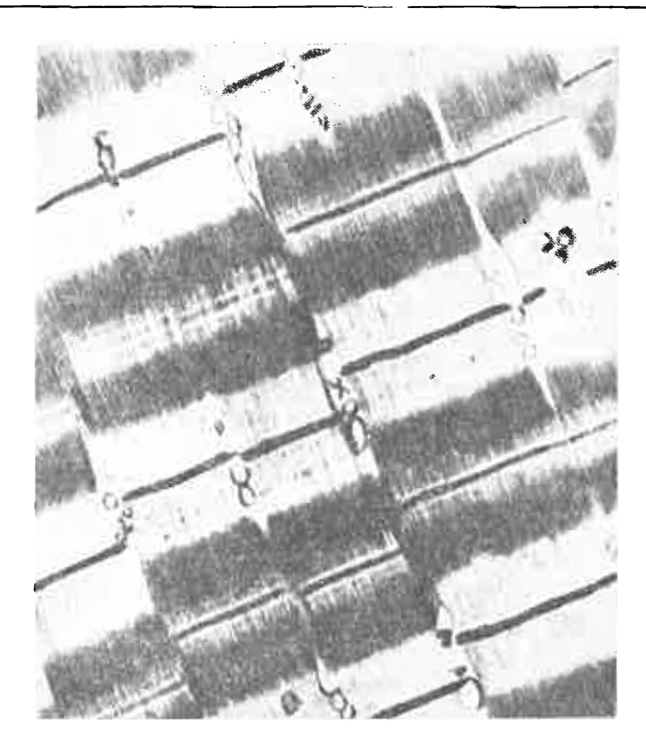


Fig. 12.4. Microphotographie électronique de la myofibrille du muscle de grenouille

bande centrale A est anisotrope, biréfringente. De part et d'autre de la bande A on trouve les bandes I, isotropes. Lorsque le muscle au repos se détend, il apparaît, au milieu de la bande A, une zone H, de moindre densité. Ces éléments de la structure sont schématisés sur les figures 12.6 et 12.7.

Une étude en microscopie électronique effectuée par H. Huxley et Hanson a mis en évidence la disposition des filaments protéiques gros et fins du sarcomère (fig. 12.5 et 12.7). Les gros sont formés par la protéine myosine, les fins par l'*actine*. Chacun des gros filaments comporte 180 à 360 molécules de myosine orientées dans le sens longitudinal qui sont responsables de l'anisotropie de la bande A dense. La bande I, moins dense, se compose de filaments fins de la protéine actine, dont les molécules sont des doubles hélices (*forme* F *de l'actine*) issues de la polymérisation de l'*actine* G globulaire. Le sarcomère renferme quelque 800 globules G par filament fin. Les filaments fins de l'actine F traversent les disques Z.

Le fil actinique a la forme d'une double hélice avec des sous-unités G qu'on retrouve tous les 5,46 nm le long de chacun de deux

fils; les points d'intersection sont séparés par une distance de 36 à 37 nm. Le diamètre de la double hélice de l'actine atteint 6 à 8 nm. Les gros fils de la myosine ont 14 nm de diamètre. Le filament myosinique porte des « têtes » saillantes disposées en hélice le long du filament. A un niveau donné les deux saillies se trouvent l'une contre

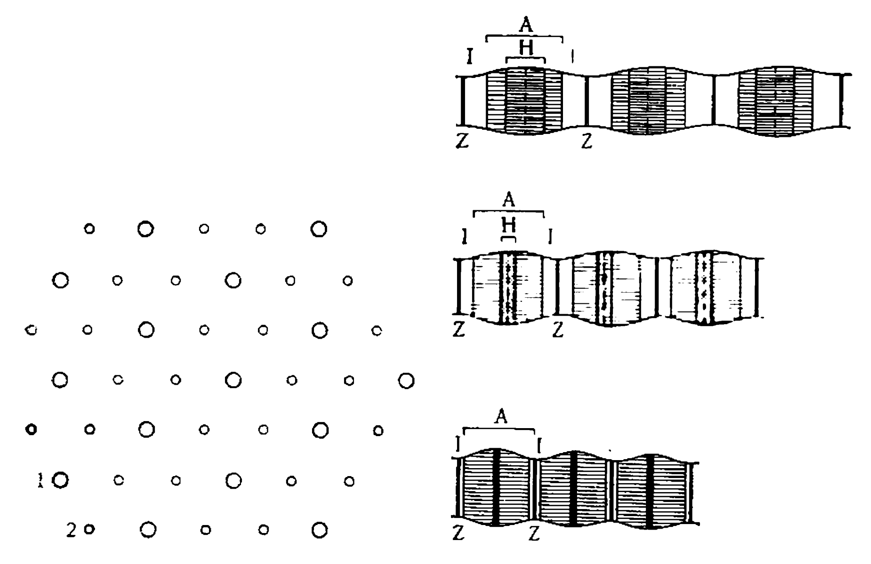


Fig. 12.5. Schéma de la coupe transversale de la myofibrille: *1* — gros filaments, *2* — fins filaments

Fig. 12.6. Schéma de la coupe longitudinale de la myofibrille pour ses trois longueurs différentes

l'autre. Deux saillies suivantes en sont distantes de 14,3 nm et forment avec la première paire un angle de rotation de 122°. La structure entière se répète avec une période de $3 \times 14{,}3 = 42{,}9$ nm.

La *myosine* se présente sous forme d'une protéine fibrillaire composée de molécules longues de 150 nm et ayant près de 2 nm de diamètre. L'extrémité enflée de la molécule (la « tête ») a près de 20 nm de long et près de 4 nm de large. Une étude détaillée de la myosine par microscopie électronique a fourni les résultats représentés sur la figure 12.8. La molécule se trouve constituée par la *méromyosine légère* (LMM) et la *méromyosine lourde* (HMM) qui comporte deux fragments S-1 et S-2. Les masses moléculaires et les dimensions de ces fragments sont indiquées sur la figure 12.8. La longue partie droite de la molécule est une double superhélice. La masse moléculaire totale de la myosine est $5 \cdot 10^5$, le taux d'hélices α est élevé (~58 %).

Au cours de la formation du gros filament les molécules de myosine entrent en agrégation, grâce, probablement, aux interactions

électrostatiques entre leurs « queues » (LMM). Le schéma de l'agrégation est donné sur la figure 12.9. Les « têtes » qui sortent du gros filament sont constituées par les fragments S-1 de la HMM.

Les monomères sphéroïdaux de l'actine G ont un diamètre de quelque 5,5 nm et une masse moléculaire de 46 000 à 47 000. Le

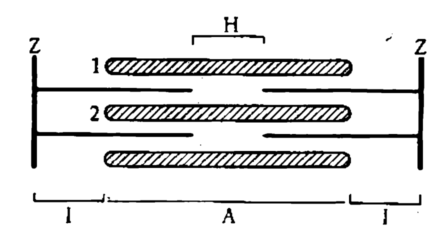


Fig. 12.7. Structure du sarcomère

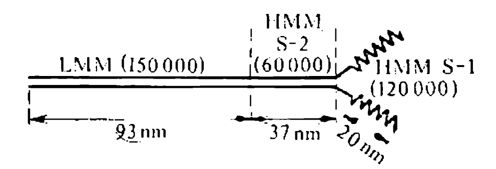


Fig. 12.8. Structure de la molécule de myosine. On a indiqué les longueurs des fragments et leurs masses moléculaires

taux d'hélices α atteint 30 %. La polymérisation de l'actine G en actine F fait intervenir l'ATP:

$$n\,(\text{actine G-ATP}) \rightleftarrows (\text{actine F-}n\text{ ADP}) + nP_i.$$

La polymérisation en solution se produit en présence de sels, notamment, de Mg^{2+}.

Les filaments fins renferment, à côté de l'actine, deux autres protéines: la *tropomyosine* et la *troponine*. La tropomyosine, dont la masse moléculaire est d'environ 70 000, est constituée de molécules longues de quelque 45 nm, avec un rapport des axes long et court de l'ellipsoïde effectif supérieur à 20. Dans la tropomyosine le taux d'hélices α s'approche de 90 %. La troponine est une protéine globulaire constituée par trois composantes de masses moléculaires 37 000, 23 000 et 19 000 (79 000 au total). Les molécules de tropomyosine s'étendent le long de chaque « sillon » de la double hélice de l'actine, le globule de troponine étant situé au voisinage de l'extrémité de chaque molécule de tropomyosine. Chaque molécule de tropomyosine est en contact avec sept molécules d'actine G (fig. 12.10).

On sait encore bien peu de choses sur les autres protéines de régulation des myofibrilles: les actinines α et β et la protéine M.

Vazina et col. ont établi que les diverses protéines contractiles forment en solution des structures cristoliquides anisotropes susceptibles de transformations polymorphiques. Comme nous l'avons vu (p. 350), ces propriétés déterminent la fonctionnalité des membranes

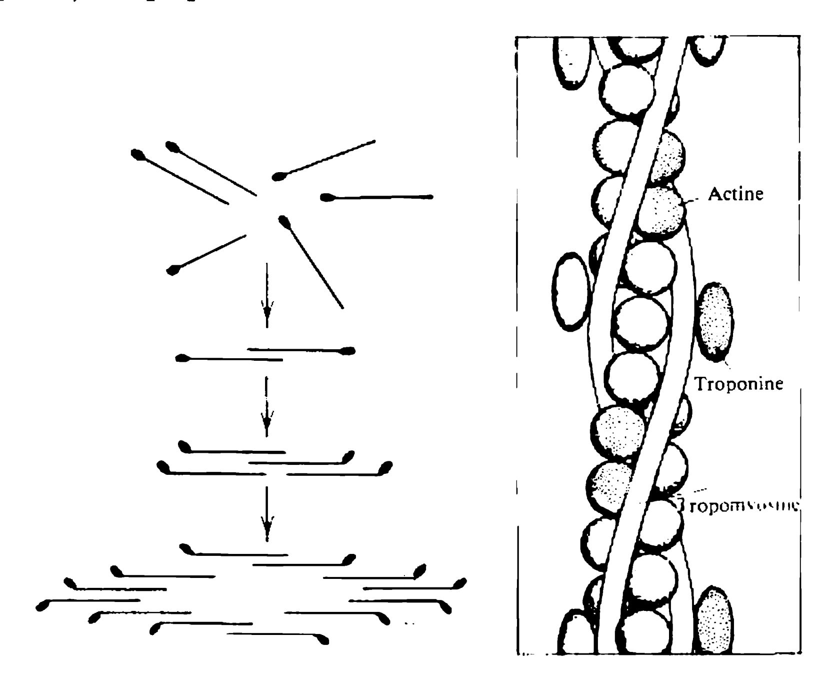


Fig. 12.9. Agrégation des molécules de myosine

Fig. 12.10. Structure du filament fin

biologiques. On peut croire que les propriétés cristoliquides des protéines contractiles sont essentielles pour la contraction musculaire.

La microscopie optique et électronique a permis de déterminer les principales caractéristiques structurales de la contraction musculaire.

Lors de la contraction (raccourcissement) d'un muscle les bandes I se rétrécissent sans que la longueur de la bande A varie ; les disques Z se rapprochent les uns des autres. Au bout du compte, les bandes I disparaissent totalement, alors qu'une zone condensée apparaît au centre du sarcomère. Le volume du sarcomère varie peu lors du raccourcissement et le sarcomère devient donc plus épais. Cela est schématisé sur la figure 12.6.

Comme le montre la microscopie électronique, au cours de la contraction les gros filaments s'intercalent parmi les filaments fins

et le sarcomère se raccourcit comme une lunette d'approche. C'est le *modèle glissant du muscle*, établi par H. Huxley.

L'interaction des filaments gros et fins se fait par l'intermédiaire des « têtes » de HMM de la myosine, ces dernières formant des « ponts » entre les filaments. Lorsque le muscle est dans son état physiologique normal, le recouvrement entre les deux types de filaments est tel que tous les ponts possibles peuvent se former (fig. 12.11, *a*); lors

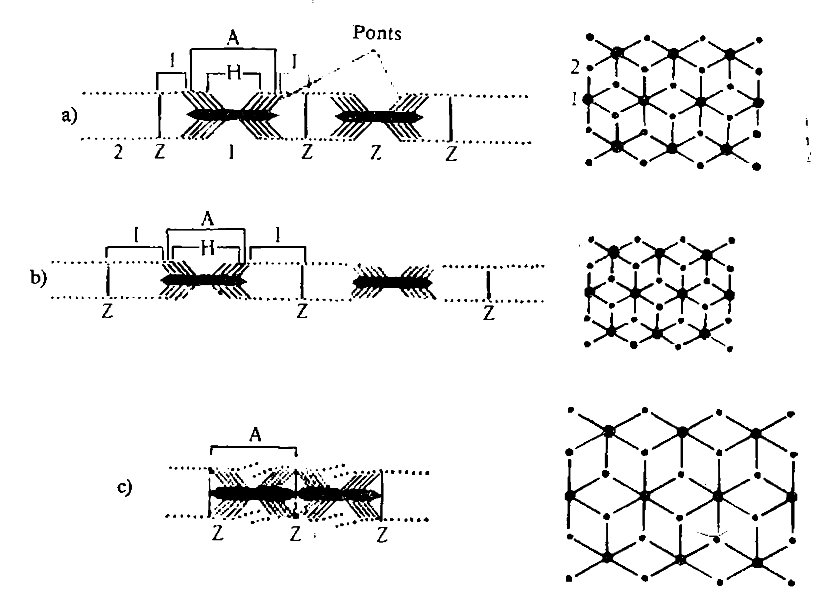


Fig. 12.11. Modèle glissant:
a) structure normale de la fibre, *b*) fibre étendue, c) fibre fortement raccourcie. A droite, la coupe transversale

d'un raccourcissement fort cela ne se produit pas (fig. 12.11, *b*). Il paraît que les filaments fins se déforment au cours des contractions poussées (fig. 12.11, *c*).

La myosine est responsable de l'anisotropie de la bande A: il n'y a pas de myosine dans les bandes I, ce qui veut dire que les filaments fins ne créent aucune anisotropie par eux-mêmes.

Dans le modèle glissant chaque pont fonctionne de façon cyclique. Le pont pousse ou traîne l'actine vers le centre de la bande A en parcourant 5 à 10 nm, puis il se détache de l'actine pour s'y fixer de nouveau en un autre point (qui était initialement plus éloigné du centre de la bande A). Ensuite le cycle recommence. Le mouvement ininterrompu des filaments actiniques résulte de l'action asynchrone des ponts.

L'effort de traction (ou de poussage) exercé par le pont ne peut résulter que d'une transformation conformationnelle. Cette transformation peut consister soit en une variation active de l'angle, sous lequel la « tête » de HMM est jointe au filament fin, soit en un changement de sa forme. Selon des résultats expérimentaux, la jonction pont-gros filament est flexible, alors que celle qui unit les ponts aux filaments fins est bien rigide. La figure 12.12 représente le modèle du déplacement du filament fin par variation de l'angle formé par le filament et le pont.

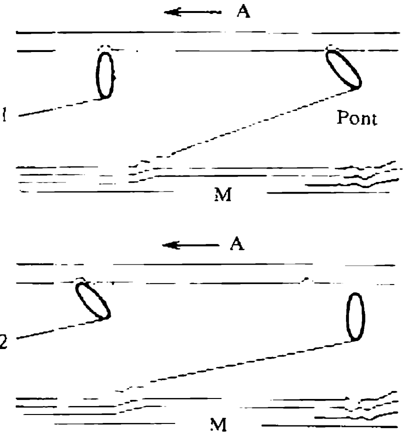


Fig. 12.12. Variation de l'angle formé par les ponts et le filament fin:
1 et *2* — instants successifs du mouvement; A — actine, M — myosine

Lors de l'engourdissement (le rigor) d'un muscle des liaisons rigides et fixes se forment entre les ponts et les filaments fins. La périodicité hélicoïdale est perturbée, la période de 42,9 nm disparaît pour céder sa place aux lignes de taches à 36-38 nm, alors que la période de 14,3 nm est maintenue. Ces phénomènes sont également explicables par des variations de la disposition des ponts, alors que le squelette de base du gros filament est conservé.

Cette situation structurale qui présente un bon accord avec le modèle glissant, est établie de façon certaine. La théorie physique de la contraction musculaire doit partir de ce modèle comme d'un fait expérimental. L'interprétation moléculaire de la contraction musculaire a à tenir compte, en plus des données structurales, des résultats des études biochimiques et physiques.

§ 12.3. Chimie et physique du muscle

La biochimie du muscle a pour base l'activité enzymatique de la myosine (M): son aptitude à catalyser l'hydrolyse de l'ATP que nous avons déjà mentionnée à la page 408. Le schéma de la réaction est le suivant:

$$M + ATP \rightleftharpoons M - ATP \rightleftharpoons M\begin{matrix} \diagup ADP \\ \\ \diagdown P \end{matrix} \rightleftharpoons M + ADP + P_1.$$

La réaction dépend beaucoup du milieu ionique, de la présence de cations bivalents. Dans le muscle cette réaction se déroule à pH 7,4.

La réaction *in vitro* n'est possible qu'en présence d'ions Ca^{2+}; elle est optimale, lorsque la concentration en ces ions est égale ou un peu supérieure à celle en ATP. Les ions Mg^{2+} inhibent l'activité ATP-asique de la myosine *in vitro*.

In vivo le fonctionnement de la myosine implique son interaction avec l'actine — par l'intermédiaire des ponts de HMM, comme on l'a déjà dit, — dans le complexe actine-myosine. Dans ces conditions les ions Mg^{2+} sont activants. Ainsi, l'activité ATP-asique *in vivo* requiert la présence aussi bien de Ca^{2+} que de Mg^{2+}.

Un muscle strié est activé en recevant un influx nerveux. Une impulsion électrique artificielle peut également amorcer la contraction (les expériences de Galvani). L'effet de l'influx fait croître la concentration des ions Ca^{2+} qui interagissent avec la fibrille. Chaque fibrille est entourée d'un système complexe de vaisseaux fins longitudinaux et transversaux, le *réticulum sarcoplasmique*. Il a été prouvé, à l'aide d'atomes marqués ^{45}Ca, que l'arrivée de l'influx a pour résultat la sortie d'ions Ca^{2+} du réticulum dans le liquide entourant les filaments protéiques, le *sarcoplasme*. Dans un muscle relâché la concentration en ions libres Ca^{2+} est très petite : inférieure, probablement, à 10^{-7}-10^{-8} M. Lors de l'activation elle augmente de 2 ou 3 ordres de grandeur.

En plus de la réaction mentionnée à la page 415, on observe la *réaction de Lohman* :

$$\text{ADP} + \text{Phosphocréatine} \xrightleftharpoons{\text{Créatine-kinase}} \text{ATP} + \text{Créatine}.$$

On sait de façon certaine que l'ATP se décompose juste au moment de la contraction musculaire. Le fluordinitrobenzène inhibe la créatine-kinase et arrête la réaction de Lohman. Mais il n'a aucun effet sur la contraction du muscle et sur la première réaction. En utilisant ce réactif on a appris que l'ATP est décomposé aussi bien lors d'une contraction isolée du muscle (*twitch*) qu'au cours d'une contraction tétanique. D'autre part, il est possible d'inhiber, par l'acétate d'iode, la réaction inverse de formation de phosphocréatine à partir de créatine. Alors la consommation de phosphocréatine caractérisera la quantité d'ADP formé au cours de la contraction. Les quantités de l'ATP décomposé pendant la contraction musculaire correspondent aux quantités consommées de phosphocréatine dans la réaction de Lohman.

La relaxation du muscle qui revient à son état initial est déterminée par le passage des ions Ca^{2+} du sarcoplasme dans le réticulum.

Ainsi, les ions Ca^{2+} effectuent la régulation des phénomènes contractiles dans les muscles. Il paraît que cela se produit avec une participation directe de la troponine et de la tropomyosine (v. p. 412). En l'absence de Ca^{2+} la troponine fixée sur la tropomyosine inhibe l'interaction de l'actine avec les ponts de myosine. Le calcium qui

pénètre dans le sarcoplasme se fixe sur la troponine en interrompant son action inhibitrice. L'ion Ca^{2+} joue donc le rôle de dérépresseur qui rend actif un filament fin inactivé.

Passons maintenant aux propriétés mécaniques du muscle auxquelles Hill et quelques autres auteurs ont consacré des études biophysiques de longue haleine.

Le terme « contraction » a deux sens, lorsqu'on l'applique à un muscle. La *contraction isométrique* du muscle ne s'accompagne d'aucune variation de sa longueur. Il se crée alors une tension, sans

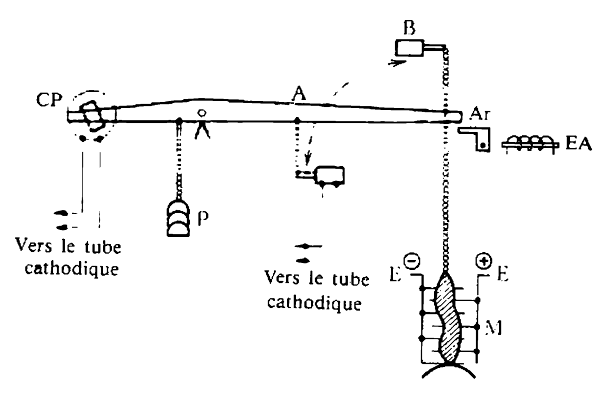


Fig. 12.13. Dispositif pour l'étude de la contraction musculaire. L'explication est donnée dans le texte

qu'il y ait raccourcissement. Par contre, la *contraction isotonique* implique un raccourcissement du muscle, l'effort demeurant constant. Dans ce cas le muscle exécute un travail en levant un poids.

La méthodologie expérimentale des mesures correspondantes a été élaborée dans les travaux classiques de Hill; depuis elle a subi de nombreux perfectionnements. La figure 12.13 représente le schéma du montage expérimental. Le muscle M est attaché à un levier. L'autre extrémité du muscle est fixée. Les électrodes E stimulent la contraction. Si l'on étudie les contractions isotoniques isolées, la charge est fixée en position P. La tension est mesurée par le capteur en position A. Lorsqu'on détermine la tension isométrique, le capteur est placé en position B. On mesure le raccourcissement isotonique en observant le déplacement de l'autre extrémité du levier, enregistré à l'aide de la cellule photosensible CP. L'arrêtoir Ar, contrôlé par l'électro-aimant EA, sert à maintenir la longueur voulue du muscle ou à libérer le muscle jusqu'à un niveau donné dans le cas d'une contraction isométrique. Comme le montrent les expériences avec le muscle de grenouille, durant les premières 15 ms après l'excitation d'une contraction isométrique isolée il se produit une série de modifications déterminées par la libération d'ions Ca^{2+}

du réticulum sarcoplasmique. Ensuite la tension se met à augmenter, son maximum étant atteint au bout de 170 ms (à 0 °C). Puis la tension baisse pour disparaître complètement plus d'une seconde après. Dans le cas d'une contraction isotonique le raccourcissement diminue avec l'augmentation de la charge P ; son maximum est atteint d'autant plus vite que la charge est plus grande. Ensuite il y a relaxation vers l'état initial. La tension isotonique dans le muscle présente pratiquement la même allure temporelle que la tension isométrique.

Hill a établi empiriquement l'équation fondamentale de la mécanique de la contraction musculaire. Elle lie la vitesse stationnaire de la contraction (raccourcissement) isotonique V à la charge P et a une forme hyperbolique :

$$(P + a)\,V = b\,(P_0 - P), \tag{12.12}$$

où P_0 est la tension maximale réalisée par le muscle ou le poids maximal que le muscle maintient sans s'allonger ; a et b sont des constantes. Lorsque $P = 0$, la vitesse de raccourcissement est maximale :

$$V_{max} = b\,\frac{P_0}{a}. \tag{12.13}$$

Par contre, si $P = P_0$, on a $V = 0$. Lorsque $P > P_0$, le muscle ne se raccourcit plus, mais s'allonge. Cet allongement ne suit pas l'équation (12.12).

La constante b qui a les dimensions d'une vitesse croît rapidement avec la température : elle double, lorsque la température monte de 10 °C à proximité de 0 °C. La constante a vaut entre $0{,}25P_0$ et $0{,}4P_0$. V_{max} peut donc valoir 2,5 à $4b$.

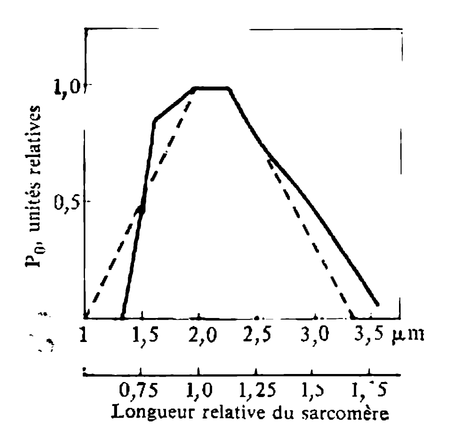


Fig. 12.14. Force maximale en fonction de la longueur du sarcomère. Le trait continu représente les résultats d'Edman, le trait interrompu ceux de Shenberg et Podolski

L'*équation de Hill* ne se vérifie que pour un raccourcissement ayant une vitesse constante. D'autre part, elle n'est applicable qu'aux longueurs de muscles, proches des physiologiques. La tension maximale P_0 dépend de la longueur du sarcomère. La figure 12.14 représente P_0 en fonction de la longueur relative du sarcomère dans la fibre musculaire : P_0 a sa valeur maximale et correspond à un palier de la courbe de la figure 12.14 dans le domaine des longueurs physiologiques. Y correspond le recouvrement total des filaments actiniques et des « têtes » de HMM des filaments myosiniques et, donc,

la possibilité de formation du nombre maximal de ponts (v. fig. 12.11, *a*). Si les sarcomères sont plus longs, le recouvrement et le nombre de ponts possibles décroissent (fig. 12.11, *b*), en même temps que P_0. Enfin, lorsque les raccourcissements sont importants, les filaments se déforment (fig. 12.11, *c*) et P_0 décroît de nouveau. L'équation de Hill est valable dans la région du palier, celle des valeurs les plus élevées de P_0, i.e. pour les longueurs du sarcomère comprises, approximativement, entre 1,7 et 2,5 μm (entre 0,9 et 1,25 en longueur relative). P_0 dépend peu de la température, augmentant légèrement avec son accroissement. Cela est vrai, également, pour la constante a, proportionnelle à P_0.

Les caractéristiques mécaniques d'un muscle sont déterminées au cours des contractions, isolées et tétaniques. Un influx isolé provoque une contraction isolée. Lorsque les impulsions successives sont suffisamment fréquentes (par exemple, 15 impulsions par seconde), les contractions isolées se réunissent en une contraction tétanique, car chaque impulsion suivante coïncide avec la période réfractaire de la précédente (v. p. 380). On tire de l'équation de Hill le travail que le muscle exécute au cours de sa contraction:

$$W = PVt = bPt\frac{P_0 - P}{P + a}. \tag{12.14}$$

La fonction $W(P)$ a une forme en cloche; W s'annule, lorsque $P = P_0$ et $P = 0$; il est maximal, quand $P = [a(P_0 + a)]^{1/2} - a$ et quand $P \approx 0{,}31\,P_0$, car $a \approx 0{,}25\,P_0$.

Selon le modèle glissant, la tension que le muscle fournit est complètement déterminée par les filaments d'actine et de myosine, ainsi que par les disques Z. Tous ces éléments ne sont pas entièrement rigides, ils présentent une certaine déformabilité. Les sarcomères terminaux des fibres musculaires sont liés au tissu conjonctif des tendons et là aussi il y a une certaine déformabilité, plasticité. En même temps, ces éléments confèrent une élasticité au mouvement du muscle. Mais la contribution totale des déformations élastiques et plastiques ne dépasse pas 3 % de la tension produite par le muscle. Il faut quand même considérer le muscle comme un corps viscoélastique. Nous verrons plus loin que l'équation de Hill ne décrit que l'écoulement visqueux dans le muscle.

L'étude des propriétés viscoélastiques du muscle est d'un intérêt fondamental pour l'élucidation de son comportement cinétique dans un régime non stationnaire (v. § 12.5).

La tension maximale P_0 du muscle de grenouille vaut près de 30 N/cm^2, ce qui donne $3 \cdot 10^{-10}$ N par filament fin. En posant que chaque élément unitaire renferme une molécule de myosine et que chaque cycle de fermeture-ouverture du pont s'accompagne de la scission d'une molécule d'ATP, dont l'énergie est utilisée à 50 %, on obtient les caractéristiques suivantes de l'élément unitaire:

force $3 \cdot 10^{-12}$ N, distance 10^{-6} cm, énergie $6 \cdot 10^{-20}$ J (15 kT), temps 1 ms.

En exécutant un travail, le muscle contracté dégage en même temps de la chaleur. Cela se produit aussi lors d'une contraction isométrique. Au cours de la relaxation de la tension isotonique le poids qui descend applique au muscle un travail qui se transforme également en chaleur.

A un stade précoce de la contraction, avant que la tension ou le raccourcissement se réalisent, on assiste au dégagement de la chaleur d'activation Q_a, de l'ordre de 4,2 mJ par gramme de masse du muscle. Cette chaleur serait liée à la libération d'ions Ca^{2+} vers le sarcoplasme et à l'interaction de ces ions avec le système actine-myosine. Ensuite, au fur et à mesure que le muscle se contracte en fournissant du travail, il y a libération de la chaleur de contraction Q_c. Lorsque le muscle se raccourcit, la chaleur Q_c se dégage plus vite que dans le cas d'une contraction isométrique de la même durée. La variation totale d'énergie au cours de la contraction s'écrit

$$\Delta E = Q_a + Q_c + W. \qquad (12.15)$$

La vitesse de dégagement de chaleur est maximale dans le domaine des dimensions physiologiques du muscle. La chaleur de contraction Q_c serait liée au maintien de la tension et résulterait de l'interaction des filaments gros et fins.

Dans les expériences de Hill le muscle était constamment excité dans les conditions isométriques, puis était immédiatement relâché et se raccourcissait en levant un poids. Dans ce cas, au-delà de la chaleur isométrique, il y a dégagement d'une extra-chaleur, la chaleur de raccourcissement. L'extra-chaleur est proportionnelle au raccourcissement à charge constante et à la charge, lorsque le raccourcissement est maintenu à un niveau constant. Dans des conditions isotoniques stationnaires la puissance du muscle — la vitesse de libération d'énergie sous forme de chaleur et de travail — s'écrit

$$\dot{E} = \dot{W} + \alpha V + m = (\alpha + P)\, V + m, \qquad (12.16)$$

où m est la vitesse de dégagement de chaleur lors d'une contraction tétanique isométrique, αV la vitesse de dégagement de l'extra-chaleur.

Il est établi que, lorsque le muscle a la possibilité de se raccourcir, l'énergie totale dégagée par le muscle au cours d'une contraction isolée est supérieure à celle qui serait libérée dans une contraction isométrique. C'est l'*effet de Fenn.*

On peut définir l'efficacité mécanique d'un muscle en tant que le rapport du travail obtenu à l'énergie consommée :

$$\eta' = \frac{W}{E} = \frac{W}{W+Q} \qquad (12.17)$$

Au cours du raccourcissement η' atteint 45 % chez la grenouille et 75 % chez la tortue. Dans le processus mécanochimique cyclique idéal exécutant le travail, l'énergie libre demeure constante:

$$\oint \Delta G = 0,$$

soit, selon (12.3),

$$\oint f\,dl = -\oint \mu\,dn \tag{12.18}$$

(cf. (12.5)). La valeur de η' caractérise l'écart à (12.18), i.e. la dégradation de l'énergie chimique en chaleur.

§ 12.4. Théorie de la contraction musculaire

La théorie moléculaire de la contraction musculaire n'existe pas encore. Mais on dispose d'une interprétation satisfaisante d'une série de faits.

Oplatka a développé une théorie de la contraction musculaire stationnaire dans le cadre de la thermodynamique du non-équilibre (1972). La contraction y est traitée comme un écoulement plastique avec frottement. L'équation de Hill (12.12) y est utilisée en tant qu'un fait expérimental et une relation est établie entre la vitesse de raccourcissement V et la vitesse de scission de l'ATP.

Une série de travaux est consacrée aux effets électrostatiques, sur la base du modèle polyélectrolytique des protéines musculaires. Il est difficile de concilier les effets électrostatiques possibles dans un milieu qui est une solution saline décinormale et les valeurs élevées de P_0 que l'on observe.

Szent-Györgyi avait proposé en son temps une hypothèse où la contraction était considérée en partant de la migration quantique de l'énergie dans le réseau quasi cristallin de l'eau entourant la myosine. Ces idées sont complètement spéculatives. Beaucoup plus tard McClare s'est de nouveau penché sur le transfert résonnant de « l'énergie moléculaire » dans le muscle (1972). Davydov a supposé que le transfert d'énergie se faisait par propagation du *soliton*: une onde isolée, non dissipante, d'excitation oscillatoire des liaisons C=O dans les hélices α de la myosine. Le gros filament se replierait alors en assurant la fermeture des ponts (1973). Ces hypothèses n'ont pas encore été corroborées expérimentalement.

Tonomura a proposé une interprétation moléculaire concrète du modèle glissant (v. p. 414). Le schéma de Tonomura est représenté sur la figure 12.15. Selon son hypothèse, 1) la contraction est liée à la phosphorylation et la déphosphorylation de la myosine; 2) la conformation de la « tête » de myosine change en présence d'ATP ; 3) la liaison actine F-myosine se rompt en donnant naissance

à un complexe myosine-ATP, lorsque la concentration en ATP est élevée, ou à un complexe myosine-phosphate-ADP, si cette concentration est petite; la force de la liaison est fonction des conformations de la myosine et du complexe actine F-protéine de régulation, la conformation de ce dernier étant contrôlée par Ca^{2+}; 4) le cycle entier résulte de la rupture de la liaison myosine-actine F précédée

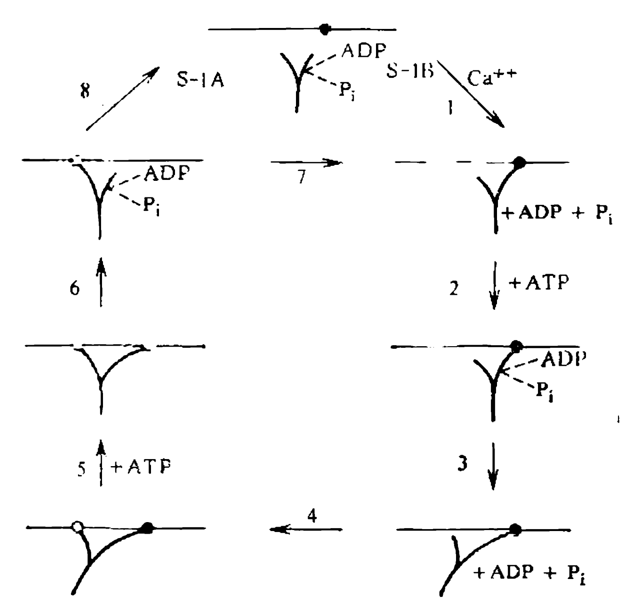


Fig. 12.15. Fonctionnement du pont:

S-1B est la partie de la « tête » de myosine qui renferme le site actif de l'ATP-ase et le site de couplage avec l'actine F, alors que S-1A ne renferme que le site de couplage avec l'actine F; *1* — arrivée de Ca^{2+}, fixation de S-1B; *2* — phosphorylation; *3* — déphosphorylation, transition conformationnelle, glissement; *4* — fixation de S-1A; *5* — formation du complexe myosine-ADP-P_i; *6* — dissociation de la liaison S-1B, transition conformationnelle spontanée; *7* — échange de liaison S-1A → S-1B; *8* — rupture du pont

de la transformation conformationnelle de la « tête » de myosine due à la libération d'énergie. La liaison se refait, quand la molécule de myosine retrouve sa forme initiale.

L'existence de variations conformationnelles dans la myosine et l'actine sous l'action de l'ATP, ainsi que dans le muscle en contraction, a été déterminée par plusieurs techniques. Mais ces variations sont encore trop peu étudiées pour pouvoir justifier un modèle comme celui que nous venons de décrire.

Nous avons déjà parlé à la page 413 des propriétés cristoliquides des protéines contractiles. Lorsque le muscle se raccourcit, on voit changer la période du réseau constitué de protofibrilles. Lorsque le réseau de filaments fins rentre dans celui de gros filaments, la symé-

trie tétragonale cède sa place à l'hexagonale. On peut l'interpréter comme une transition polymorphique dans un système cristoliquide. La question est encore à élucider.

La première tentative d'édifier une théorie physique quantitative fondée sur le modèle glissant a été entreprise par A. Huxley (1957). On suppose que la saillie active de HMM (que nous désignerons par M) oscille le long du filament fin, le site actif de l'actine (A) demeurant immobile. Les réactions ont la forme suivante:

$$\mathrm{A}+\mathrm{M} \rightarrow \mathrm{AM} \text{ (formation d'un pont)},$$

$$\mathrm{AM}+\mathrm{ATP} \rightarrow \mathrm{A{\cdot}ATP}+\mathrm{M} \text{ (rupture du pont)},$$

$$\mathrm{A{\cdot}ATP} \rightarrow \mathrm{A{\cdot}ADP}+\mathrm{P_i} \text{ (scission de l'ATP)}.$$

On résout un problème cinétique, en faisant dépendre les constantes de vitesse de deux premières réactions de la distance qui sépare A et M le long de la myofibrille. La solution tient compte du déplacement relatif de A et M lors du raccourcissement du sarcomère. En ajustant numériquement quelques paramètres on se retrouve en accord avec les résultats du calcul de $P(V)$ selon l'équation de Hill.

Dechtcherevski (1968) a perfectionné la théorie de Huxley. On prête aux ponts trois états: ponts fermés qui exercent une force de traction; ponts fermés qui freinent le glissement des filaments; ponts ouverts. Les ponts se ferment indépendamment les uns des autres et tirent les filaments en provoquant une contraction active. Ensuite les mêmes ponts freinent le mouvement, les filaments s'étant déplacés; enfin, les ponts se rompent. En désignant par n_0 le nombre total de saillies actives de HMM dans la moitié du gros filament, par n le nombre de ponts traînants et par m le nombre de ponts freinants, on a

$$\dot{n} = k_1(n_0 - n - m) - \frac{v}{L} n, \qquad (12.19)$$

$$\dot{m} = \frac{v}{L} n - k_2 m. \qquad (12.20)$$

Ici v/L est la constante de vitesse de la transformation des ponts traînants en ponts freinants, égale à la vitesse de déplacement relatif des filaments v, divisée par la distance L entre deux sites actifs voisins de l'actine, sur lesquels le pont peut se fermer. A ces équations s'adjoint l'expression de la deuxième loi de Newton:

$$M\dot{v} = f_0(n - m) - f n_0, \qquad (12.21)$$

où M est la masse déplacée, f_0 la force active mise en jeu par un pont traînant, f la force extérieure (le poids) par pont. L'équation (12.21) décrit un mouvement accompagné de frottement (exprimé par $f_0 m$). Dans les conditions stationnaires $\dot{n} = \dot{m} = 0$ et $\dot{v} = 0$. Dans ce

cas, en éliminant entre (12.19) à (12.21) n, m et n_0, on trouve

$$(f + a) v = b (f_0 - f). \quad (12.22)$$

Cette équation coïncide avec celle de Hill (12.12). Toutes les grandeurs de (12.22) se rapportent à un pont, v étant la vitesse de raccourcissement dans la moitié du sarcomère. Les constantes a et b s'expriment à l'aide de k_1, k_2, f_0 et L:

$$a = k_1 f_0/(k_1 + k_2), \quad (12.23)$$

$$b = k_1 k_2 L/(k_1 + k_2). \quad (12.24)$$

Ainsi, l'équation empirique de Hill est déduite théoriquement. Elle correspond à un glissement stationnaire des filaments, la force de frottement étant proportionnelle à la vitesse.

On voit que le cycle de Dechtcherevski n'inclut pas les processus inverses. En les prenant en considération, il vient (cf. p. 326)

$$k_1 k_2 \frac{v}{L} = k_{-1} k_{-2} k_{-3}$$

et, si k_{-1}, $k_{-2} \ll k_1$, k_2, on a $k_{-3} \gg v/L$. Il doit y avoir donc un second cycle déclenchant le cycle considéré. Ce second cycle est la chaîne fermée de transformations chimiques conduisant à la scission de l'ATP.

Cette théorie fournit la bonne solution pour les contractions isotoniques stationnaires, mais elle n'explique pas l'évolution de la tension lors d'une contraction isométrique.

Maintenant nous allons exposer la théorie de la contraction stationnaire, fondée sur la théorie des vitesses absolues de réactions (Volkenstein, 1969).

On part du modèle glissant à frottement. L'effort de traction ou de poussage résulte de la fermeture du pont et des événements qui la suivent ; ces événements consistent en transformation de l'énergie chimique de l'ATP en énergie de réorganisation conformationnelle du système protéique contractile. Chaque pont, en se fermant, produit une tension f_0. Ce sont la fermeture et l'ouverture du pont qui créent le frottement entre les filaments. La deuxième loi de Newton s'écrira sous la forme

$$M\dot{V} = P' - P - BV, \quad (12.25)$$

où M est la masse déplacée, P la tension appliquée, P' la tension développée, BV la force de frottement. Dans les conditions stationnaires $\dot{V} = 0$. Représentons P par $n_0 f$, où n_0 est le nombre maximal de ponts en fonctionnement. Les ponts fonctionnent de façon asynchrone et, à une charge donnée, le raccourcissement du muscle ne fait intervenir qu'un certain nombre effectif de ponts $n = w n_0$, où $w < 1$.

Ces ponts, en se fermant, développent une tension $P' = nf_0 = wn_0f_0$. Ils sont donc responsables du frottement interne ; par conséquent, $B = \beta_n = \beta wn_0$. La quantité w dépend de P, i.e. de f. Pour le régime stationnaire il vient

$$wf_0 - f - \beta wv = 0, \tag{12.26}$$

d'où

$$v = \frac{1}{\beta}\left(f_0 - \frac{f}{w(f)}\right). \tag{12.27}$$

Physiquement, on fait l'hypothèse que $w = n/n_0$ n'est fonction que de la force f et non de la vitesse v. Alors, w ne dépend de v que parce que la force dépend de la vitesse. Cette hypothèse est indépendante de la loi des forces (12.25), (12.26). Déterminons la forme de la fonction $w(f)$. La charge étant maximale (P_0), le poids est retenu par tous les ponts : $n(f_0) = n_0w(f_0) = n_0$ et $w(f_0) = 1$. Conformément à l'équation (12.27), la vitesse $v = 0$, lorsque $f = f_0$. Quand $f = 0$, on voit fonctionner le nombre minimal de ponts $n(0) = n_0w(0) = n_{\min}$ et $w(0) = n_{\min}/n_0 \equiv r < 1$. La vitesse maximale de raccourcissement à $f = 0$ s'écrit

$$v_{\max} = f_0/\beta. \tag{12.28}$$

On fait l'hypothèse évidente que la tension développée par le muscle lors d'une contraction isométrique ou le poids retenu par le muscle, s'il s'agit d'une contraction isotonique, dépendent linéairement du nombre de ponts en fonctionnement, car chacun des ponts développe une tension constante f_0. Il vient donc

$$P = n_0f = (A + Cn)f_0.$$

Lorsque $f = f_0$, on a $n = n_0$ et $n_0 = A + Cn_0$; quand $f = 0$, on obtient $n = n_{\min} = rn_0$ et $A = -Crn_0$. On trouve

$$w = n/n_0 = r + (1 - r)f/f_0. \tag{12.29}$$

En substituant cette expression dans (12.27), on obtient l'équation de Hill sous la forme

$$v\left(\frac{r}{1-r}f_0 + f\right) = \frac{f_0}{\beta}\frac{r}{1-r}(f_0 - f). \tag{12.30}$$

Les constantes a et b sont donc de la forme

$$a = \frac{r}{1-r}f_0, \tag{12.31}$$

$$b = \frac{r}{1-r}\frac{f_0}{\beta} = \frac{a}{\beta}. \tag{12.32}$$

Selon les résultats expérimentaux, $a \approx 0{,}25f_0$. On a donc $r/(1 - r) \approx 0{,}25$ et $r \approx 0{,}2$. Il découle de l'équation (12.30) que

$$v_{\max} = \frac{f_0}{\beta} = \frac{1-r}{r}b \approx 4b. \tag{12.33}$$

Le frottement est le résultat de l'ensemble des événements qui se produisent lors de la fermeture d'un pont. Nous considérerons comme l'acte élémentaire une fermeture de pont, l'hydrolyse d'une molécule d'ATP, la transformation conformationnelle du pont et la production du travail f_0L (L étant le déplacement d'un raccourcissement), ainsi que l'ouverture du pont. L'acte microscopique inverse conduit à la synthèse d'une molécule d'ATP à partir d'ADP et P_i, le travail f_0L étant appliqué au système.

Servons-nous de la théorie du frottement interne des liquides que l'on doit à Eyring (p. 188). Il est possible de représenter le changement de l'état du système à l'aide de la courbe d'énergie libre (fig. 12.16). Ici *1* est l'état du système avant la fermeture du pont, *2* son état après la fermeture et tous les événements qui l'ont suivie. L'ensemble des événements constituant l'acte élémentaire considéré exige une certaine énergie d'activation. Cela découle d'ailleurs, de façon directe, de la forte dépendance de b avec la température (p. 418). La force extérieure rapportée à un pont, $P/n = n_0f/n = f/w$, empêche la transition $1 \rightarrow 2$ et favorise la transition inverse $2 \rightarrow 1$. Cette force, orientée le long de la fibre musculaire, forme un certain angle ϑ avec le pont (fig. 12.17). Le pont est donc soumis à la force $f \cos \vartheta / w$, à laquelle correspond l'énergie $fl \cos \vartheta / w$, où l est la longueur de la liaison chimique ou chélatée reliant la saillie de HMM au site actif de l'actine.

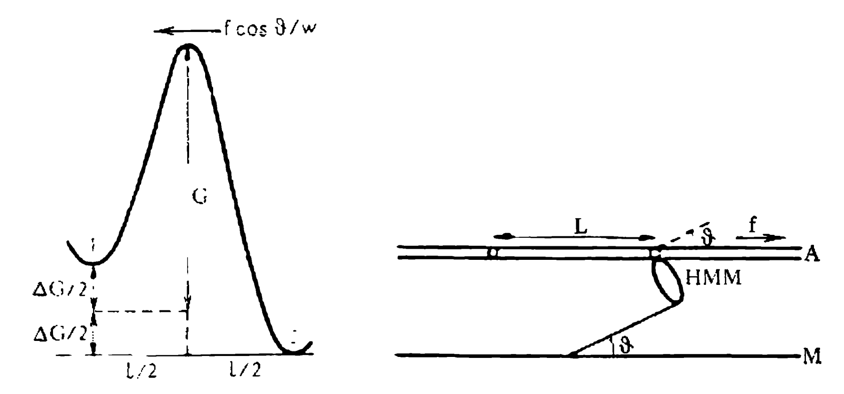


Fig. 12.16. Courbe d'énergie libre

Fig. 12.17. Pont en fonctionnement

La vitesse de raccourcissement se présentera comme

$$v = (\nu_+ - \nu_-) L \equiv \nu L, \tag{12.34}$$

où ν_+ et ν_- sont les nombres d'actes élémentaires de transition par-dessus la barrière d'activation par unité de temps pour, respectivement, les sens $1 \rightarrow 2$ et $2 \rightarrow 1$. Conformément à la théorie d'Eyring il vient (v. fig. 12.16):

$$\nu_+ = \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{G_+}{kT}\right), \quad \nu_- = \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{G_-}{kT}\right), \tag{12.35}$$

h étant la constante de Planck et k la constante de Boltzmann,

$$G_+ = G + \frac{fl\cos\vartheta}{2w} - \frac{\Delta G}{2},$$
$$G_- = G - \frac{fl\cos\vartheta}{2w} + \frac{\Delta G}{2}, \tag{12.36}$$

soit

$$\nu = \nu_+ - \nu_- = \frac{kT}{h}\, 2\,\mathrm{sh}\left(\frac{\Delta G}{2kT} - \frac{fl\cos\vartheta}{2wkT}\right)\exp\left(-\frac{G}{kT}\right). \tag{12.37}$$

Lorsque $f = f_0$, la vitesse $v = 0$, i.e. $\nu_+ = \nu_-$. Alors $w = 1$. On obtient $\Delta G = f_0 l\cos\vartheta$ et

$$\nu = \frac{kT}{h}\, 2\,\mathrm{sh}\left[\frac{l\cos\vartheta}{2kT}\left(f_0 - \frac{f}{w}\right)\right]\exp\left(-\frac{G}{kT}\right). \tag{12.38}$$

Si

$$\left(f_0 - \frac{f}{w}\right) l\cos\vartheta \ll 2kT, \tag{12.39}$$

on a

$$\nu \approx \frac{l\cos\vartheta}{h}\left(f_0 - \frac{f}{w}\right)\exp\left(-\frac{G}{kT}\right). \tag{12.40}$$

et

$$v \approx \frac{lL\cos\vartheta}{h}\left(f_0 - \frac{f}{w}\right)\exp\left(-\frac{G}{kT}\right). \tag{12.41}$$

Nous avons obtenu une équation analogue à (12.27). La comparaison des équations (12.27) et (12.41) donne

$$\beta = \frac{h}{Ll\cos\vartheta}\exp\left(\frac{G}{kT}\right) \tag{12.42}$$

et

$$b = \frac{r}{1-r}\,\frac{f_0 Ll\cos\vartheta}{h}\exp\left(-\frac{G}{kT}\right), \tag{12.43}$$

$$v_{max} = \frac{f_0 Ll\cos\vartheta}{h}\exp\left(-\frac{G}{kT}\right). \tag{12.44}$$

Ainsi, β, b, v_{max} se trouvent exprimés en fonction des paramètres moléculaires f_0, L, l, $\cos\vartheta$, G.

Procédons à des estimations numériques. Avant tout, il faut s'assurer de la validité de la condition (12.39). La tension est maintenue dans chaque moitié du sarcomère. Pour le muscle de grenouille, le nombre de points N dans un volume égal à 1 cm² multiplié par 1,1 μm (longueur de la moitié du sarcomère), vaut $6{,}5\cdot 10^{12}$. L'expérience fournit un P_0 de l'ordre de 300 kPa. Un pont crée la force $f_0 = P_0/N = 4{,}6\cdot 10^{-12}$ N. Posons que la longueur de liaison $l = 0{,}2$ nm et que $\cos\vartheta < 1$ est égal à 0,5. On a $f_0 l\cos\vartheta = 4{,}6\cdot 10^{-22}$ J $= 2\,kT\cdot 0{,}055$. La condition est satisfaite.

La vitesse maximale de raccourcissement du muscle de grenouille à 0 °C, V_{max}, est égale à 1,33 Λ_0/s, où Λ_0 est la longueur initiale du muscle. Pour notre calcul il faut prendre $\Lambda_0 = 1{,}1$ μm, la demi-longueur du sarcomère. Alors, $v_{max} = 1{,}5$ μm/s et $b = 0{,}4\cdot 10^{-5}$ cm/s. Le pas élémentaire L a une valeur de l'ordre de 10 nm. En substituant dans (12.44) les valeurs de f_0, L, $\cos\vartheta$, l, tirées de la valeur expérimentale de v_{max} (ou de b), on trouve $G \approx 59$ kJ/mol.

Lorsque la température monte de 10 K (de 300 jusqu'à 310 K), b doit augmenter de 2,14 fois. Expérimentalement, b se trouve multiplié par 2,05. La théorie exposée explique donc bien la variation de la constante b en fonction de la température.

Il découle des équations écrites ci-dessus que

$$w = b/(b + v). \tag{12.45}$$

Si $v = 0$, $w = 1$; quand $v = v_{max} = b\,(1 - r)/r$, on a $w = w_{min} = r$:

$$w_{min} = r = b/(b + v_{max}). \tag{12.46}$$

Il est tout naturel que cette théorie conduit à un résultat équivalent à celui de la théorie de Dechtcherevski. D'après les équations (12.23) et (12.31), $k_2/k_1 = (1 - 2r)/r$. En substituant dans l'équation (12.19) la valeur stationnaire de $m = nv/Lk_2$ de (12.20), on trouve

$$\dot{n} = k_1 n_0 - \left(k_1 + \frac{k_1 + k_2}{k_2 L}\, v\right) n \tag{12.47}$$

et, à $\dot{n} = 0$, on obtient le rapport stationnaire $n/n_0 = w$. En l'égalant à l'expression (12.45), il vient

$$k_1 \left(k_1 + \frac{k_1 + k_2}{k_2 L}\, v\right)^{-1} = \frac{b}{b + v}. \tag{12.48}$$

On tire de ces relations

$$\begin{aligned} k_1 &= \frac{l \cos \vartheta}{h} \frac{f_0 r}{1 - 2r} \exp\left(-\frac{G}{kT}\right), \\ k_2 &= \frac{l \cos \vartheta}{h} f_0 \exp\left(-\frac{G}{kT}\right). \end{aligned} \tag{12.49}$$

Dans le cadre de la théorie exposée le frottement apparaît grâce à la fermeture et à l'ouverture des ponts, car ces processus exigent une énergie d'activation. La théorie est en accord avec le principe de réversibilité microscopique et exprime les constantes cinétiques à l'aide des paramètres moléculaires. Cependant, ce n'est pas une vraie théorie moléculaire : le mécanisme moléculaire précis de la contraction demeure inconnu.

Une théorie de la production de chaleur dans le muscle a été proposée par Tawada, Kounosu et Oosawa (1974). Selon leur hypothèse, l'énergie libérée par la contraction du muscle se compose de l'énergie stockée, dissipée dans les centres d'un type donné et de l'énergie due à la scission de l'ATP dans les centres d'un autre type. La chaleur de raccourcissement serait issue de l'énergie dissipée. Cela implique le fonctionnement, dans ces deux types de centres, de deux ATP-ases actomyosiniques différentes. Il y a des faits qui corroborent ces hypothèses et la théorie fournit un bon accord avec l'expérience. Toutefois, il est trop tôt pour considérer ce problème comme résolu, car la théorie comporte des thèses à caractère de postulats que l'on n'a pas encore pu démontrer.

§ 12.5. Propriétés cinétiques du muscle

La théorie quantitative que nous venons d'exposer se rapporte à la contraction musculaire stationnaire. Les propriétés dynamiques du muscle dans un régime non stationnaire ne sont pas moins intéressantes. La contraction stationnaire a la nature d'un écoulement plastique. Dans les conditions non stationnaires les muscles manifestent leurs propriétés élastiques. Ainsi, dans les expériences de relâchement rapide (*quick release*), où un muscle isométriquement contracté est libéré et subit une contraction isotonique rapide, on observe des oscillations lentement amorties. Leur fréquence est de l'ordre des kilohertz pour un muscle long de quelques centimètres.

En considérant le muscle comme un corps viscoélastique, on peut construire un modèle comportant un élément élastique non amorti avec un élément élastique amorti connecté en série et un troisième élément élastique, parallèle à deux premiers (fig. 12.18). Ce modèle formel est une combinaison des modèles de Voigt et de Maxwell. Le *modèle de Voigt* est un élément élastique connecté en parallèle avec un élément amorti ; le *modèle de Maxwell* comporte les mêmes éléments, connectés en série.

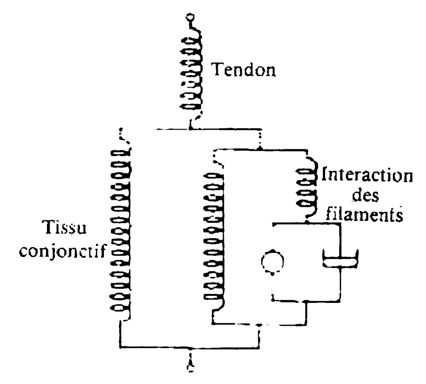


Fig. 12.18. Modèle formel du muscle

La génération d'oscillations dans le muscle peut être déterminée par la non-linéarité des équations cinétiques non stationnaires qui ne renferment pas d'élasticité sous une forme explicite. La possibilité des oscillations est conditionnée, dans ce cas, par la cinétique de la fermeture-ouverture des ponts. D'autre part, le pont est en soi un système viscoélastique. La tension générée par un pont fermé peut varier pas à pas, en fonction de l'angle formé par la « tête » S-1 de HMM et l'actine, ainsi qu'en fonction du degré d'extension de S-2. Les transitions entre ces pas exercent leur effet sur la réponse non stationnaire rapide du muscle. Ainsi, lors du relâchement rapide, la cause des oscillations réside dans la déformation élastique du pont lui-même. C'est l'hypothèse la plus vraisemblable, mais encore non démontrée.

Les *muscles de vol des insectes* (MVI) et les muscles tympanaux des cigales qui en sont proches présentent un grand intérêt pour la physique et la biologie. Ces muscles sont susceptibles de contractions périodiques rapides d'une fréquence de l'ordre de 100 Hz. La structure des MVI rappelle beaucoup celle des muscles striés des vertébrés.

On a pu appliquer aux MVI le modèle glissant avec les ponts actine-myosine.

Les oscillations rapides des MVI impliquent la présence d'un élément élastique à fonctionnement direct. L'étude au microscope montre que les MVI possèdent, à la différence des muscles des vertébrés, une liaison directe entre les filaments myosiniques et les membranes Z, liaison assurée par un élément spécial C (fig. 12.19). Cet élément serait susceptible de déformations élastiques.

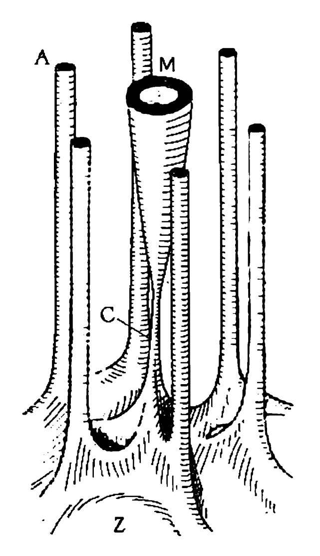


Fig. 12.19. Structure microscopique du muscle de vol des insectes

On a constaté une différence importante entre les oscillations des MVI et celles du potentiel qu'ils reçoivent. Ainsi, chez la mouche, la fréquence du potentiel arrivant sur les MVI est de 3 Hz, alors que celle des oscillations des ailes atteint 120 Hz. Chaque mouvement oscillatoire du muscle n'est donc pas accompagné par son activation. Les oscillations des MVI ont la nature des *auto-oscillations.* Les auto-oscillations apparaissent dans des systèmes non linéaires par le jeu de forces qui dépendent de l'état de mouvement du système même; l'amplitude des auto-oscillations ne dépend pas des conditions initiales (v. chapitres 15 et 16). Ces auto-oscillations des MVI sont excitées en présence d'une rétroaction entre la déformation et la tension. Le rapport entre ces deux grandeurs varie en fonction de l'état d'activité du système. Les MVI posséderaient un « élément convertisseur » réagissant aux événements mécaniques et contrôlant l'état du système contractile. Cet élément serait localisé dans les myofibrilles, car les échantillons de MVI lavés au glycérol demeurent susceptibles d'auto-oscillations.

Lors d'une contraction isolée du muscle d'un vertébré on observe une périodicité caractéristique « en dents de scie ». On l'a déterminé par une technique optique (Franck, 1964). On étudie avec succès la dynamique moléculaire des muscles à l'aide de la technique de radiographie rapide utilisant le *rayonnement synchrotron* (p. 147). Vazina et col. ont réussi un « filmage » radiographique du muscle avec un pouvoir résolvant allant jusqu'à 0,003 s.

Les propriétés cinétiques des muscles sont encore assez mal connues. L'approche générale de leur compréhension doit partir de la théorie des systèmes dynamiques non linéaires (v. chapitres 15 et 16).

§ 12.6. Systèmes mécanochimiques

La contraction musculaire est le phénomène mécanochimique le mieux étudié. Une multitude de processus biologiques s'y rapportent également: mouvements des végétaux; mouvements des cellules à l'aide de *flagelles* et de *cils vibratiles*; l'ensemble des mouvements dans les processus de *mitose* et de *méiose*; *mouvement du protoplasme* à l'intérieur d'une cellule qui ne se divise pas; phénomènes de contraction dans les queues des phages; phénomènes mécanochimiques dans les membranes; déplacement des ribosomes par rapport aux ARNm dans les polysomes; *mécanoréception.*

Cette liste non exhaustive montre, combien la mécanochimie est importante pour la biologie.

Les flagelles et les cils vibratiles sont les systèmes contractiles spéciaux des bactéries et des protozoaires, qui assurent le déplacement de ces organismes dans le milieu liquide. Les cils fonctionnent également dans certains organes des pluricellulaires. Ainsi, les *Ctenophora* assurent l'orientation de leurs corps par des mouvements concertés des cils; les cils vibratiles créent un courant de liquide dans les branchies des mollusques bivalves, dans la trachée de l'homme, etc.

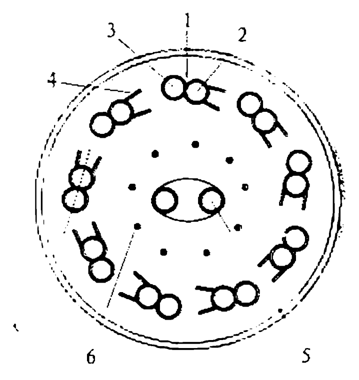


Fig. 12.20. Coupe transversale d'un flagelle:
1 — fibrille périphérique, *2* — subfibrille A, *3* — subfibrille B, *4* — « bras », *5* — fibrille centrale, *6* — fibrille secondaire

Les flagelles et les cils vibratiles ont une structure similaire. Ce sont des formations allongées, dont la longueur peut varier entre quelques micromètres et plusieurs millimètres et le diamètre de 0,1 à 0,5 μm. La microscopie électronique montre que le flagelle est constitué par neuf fibrilles périphériques et deux fibrilles centrales (fig. 12.20). Les structures « 9 + 2 » sont caractéristiques de nombreux systèmes biologiques à structure fibrillaire.

Le diamètre des fibrilles centrales du flagelle est proche de 24 nm, la distance entre leurs centres est égale à 30 nm. Les dimensions transversales de chacun de neuf doublets — fibrilles périphériques — sont 37 × 25 nm². Le doublet comporte deux subfibrilles, A et B; la subfibrille A est munie de deux expansions — « bras » — longues de 15 et épaisses de 5 nm. Les fibrilles ont la forme de cylindres creux, dont les parois sont formées de 10 protofibrilles ayant 3,5 nm de diamètre.

On connaît encore mal les protéines des flagelles et des cils vibratiles. Il est établi qu'elles possèdent une activité ATP-asique. Les

formes et les fréquences des mouvements ondulatoires se propageant le long du flagelle de sa base vers son extrémité, sont fonction de la concentration en ATP. Ce sont des protéines contractiles autres que la myosine ou l'actine.

Les modèles théoriques existants du fonctionnement des flagelles et des cils vibratiles se rapportent aux variations de l'état conformationnel des unités contractiles protéiques sous l'action de l'onde de contraction. Dans chaque unité il y a scission d'ATP. Il existe un glissement des subfibrilles à l'intérieur des flagelles et des cils ; les « bras » fonctionnent comme les ponts dans l'actomyosine du muscle. On ne dispose pas encore d'une théorie moléculaire détaillée qui expliquerait le mouvement ondulatoire des flagelles et des cils vibratiles du point de vue quantitatif.

Des protéines contractiles ont été identifiées, également, dans d'autres systèmes. Ainsi, on a isolé des spermatozoïdes une protéine ATP-asique contractile, la *spermasine*. Dans les « queues » des bactériophages, ainsi que dans les feuilles mobiles des plantes (notamment, du mimosa), on trouve également des protéines contractiles ATP-asiques.

Le déplacement du protoplasme dans la cellule de l'algue *Nitella* a pour origine une force générée à la frontière gel-sol. On y voit les structures fibreuses glisser par rapport au sol qui les entoure. Les amibes possèdent des faisceaux de filaments fins ; on en a isolé des protéines ressemblant à l'actine et à la myosine. Il est probable que le déplacement du protoplasme est assuré par un système actomyosine-ATP.

Au cours du déplacement amiboïde il y a, dans les pseudopodes, montage et démontage de microtubules.

On pensait encore récemment que la roue ne pouvait être qu'une réalisation de l'esprit humain, que l'évolution naturelle ne pouvait aboutir à la création d'un dispositif macroscopique assurant la rotation autour d'un axe. Or, aujourd'hui on sait que même la bactérie *Escherichia coli* possède une sorte de roue. Chaque cellule de *E. coli* est munie de quatre flagelles longs. Leurs mouvements rotatoires permettent à la cellule de se déplacer. A la base du flagelle, située sur la paroi cellulaire et la membrane, on trouve une « roue », anneau constitué de 16 molécules protéiques dans la membrane, opposé à un anneau analogue qui se trouve dans la paroi cellulaire (schéma de la fig. 12.21). La rotation du flagelle par suite de la rotation de l'anneau semblable à un roulement à billes, se produit grâce à l'énergie libérée lors du transfert de protons à l'intérieur de la cellule. Si un proton doit traverser chaque protéine pour que le flagelle tourne de 360°/16, un tour complet exigera 256 protons.

La *plasmodie myxomycétique* présente des mouvements vibratoires actifs du protoplasme. Elle renferme une actine et une myosine qui ressemblent beaucoup à l'actine et à la myosine musculaires. Mais

la myosine de la plasmodie ne forme pas de gros filaments : rien que de petits oligomères. Néanmoins, cette myosine interagit avec l'actine de la plasmodie. On a trouvé dans cette dernière de fins faisceaux de filaments en actine et myosine. Ces faisceaux apparaissent et disparaissent suivant les phases des vibrations. L'écoulement du protoplasme est régulé par les ions Ca^{2+} avec une intervention probable de protéines régulatrices encore inconnues. On peut croire

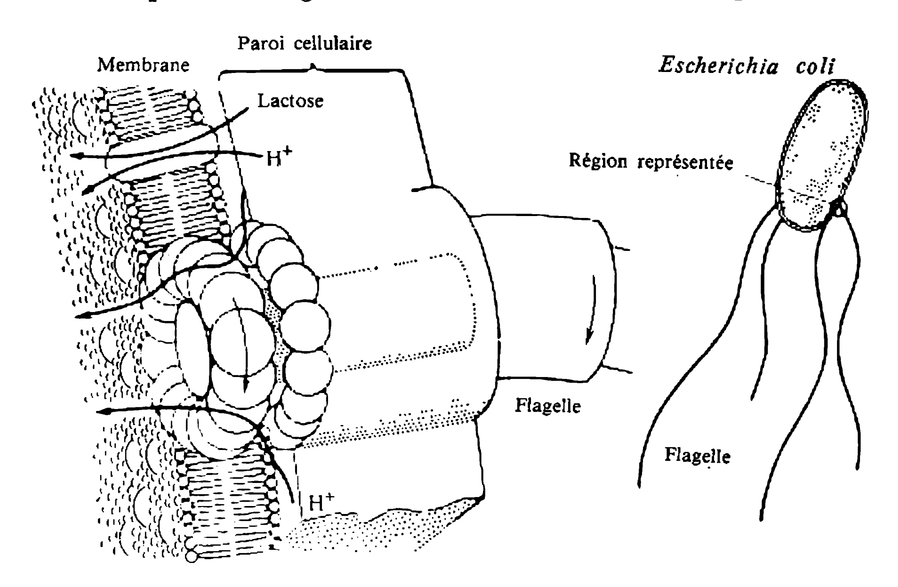


Fig. 12.21. Dispositif locomoteur de *E. coli*

que le mouvement protoplasmique ressemble au mouvement musculaire, mais, vu l'absence de gros filaments, ces deux mouvements ne sont pas identiques.

Lors de la mitose et de la méiose le protoplasme se déplace, ainsi que les chromosomes. L'appareil mitotique de la cellule se compose de brides visibles au microscope, qui relient les centrioles aux centrioles, ainsi que les chromosomes aux centrioles. Ainsi que les flagelles et les cils, les centrioles ont une structure « 9 + 2 ». Il a été démontré que les flagelles des spermatozoïdes se développent à partir des centrioles et des kinétochores des chromosomes.

La protéine de l'appareil mitotique est analogue à l'actine. L'addition d'ATP provoque un allongement lent de l'appareil mitotique. On n'a pas encore élucidé le rapport direct entre les mouvements mitotiques et l'activité ATP-asique ; le mécanisme de fonctionnement de l'appareil mitotique demeure inconnu.

28—01676

Il est plus que probable que la *mécanoréception*, ainsi que la réception acoustique sont liées aux phénomènes mécanochimiques. La mécanoréception impliquerait un effet mécanique sur les canaux ioniques dans les membranes des cellules réceptrices, une déformation de ces canaux. On peut considérer les canaux ioniques comme des « enzymes vectoriels » qui transforment l'ion entrant (substrat) en ion sortant (produit).

Un mécanorécepteur isolé — *corpuscule de Pacini* — est schématisé sur la figure 12.22. Le récepteur comporte une terminaison nerveuse entourée d'une capsule constituée d'une zone périphérique et d'une zone centrale. La zone périphérique se compose d'environ 30 enveloppes élastiques fermées. La zone centrale comporte 60 couches cytoplasmiques compactement assemblées et séparées par une « fente » orientée le long du grand axe de la section elliptique de la terminaison nerveuse. Le module d'élasticité des enveloppes de la zone périphérique est voisin de 10^6 g/cm² (108 Pa), les enveloppes étant aptes à distinguer la force mécanique comprise entre 150 et 200 dyn ((1,5 à 2) 10^{-3} N).

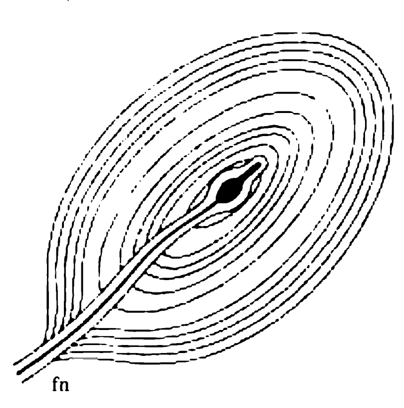


Fig. 12.22. Schéma d'un corpuscule de Pacini (*fn*— fibre nerveuse)

Les corpuscules de Pacini transforment l'effet mécanique en influx nerveux. Dans ce sens leur fonction est inverse de celle du muscle. Tchernigovski et col. (1970) ont étudié les caractéristiques de ces convertisseurs. La sensibilité maximale a été enregistrée pour les fréquences allant de 100 à 220 Hz et la fréquence optimale de répétition du potentiel d'action coïncide avec cette valeur. On voit se réaliser une sorte de « résonance biomécanique ». La période propre d'excitation du récepteur constitue 9,6 ms, ce qui correspond à la même périodicité des excitations, de l'ordre de 100 Hz. Selon l'hypothèse qu'on a faite, la régulation de la perméabilité de la membrane plasmique de la terminaison nerveuse serait liée à l'intervention de protéines contractiles. On a établi que le site actif de la terminaison nerveuse autour de la « fente » joue le rôle prédominant dans l'apparition de l'excitation. On a prouvé qu'il s'y produit la scission de l'ATP. La membrane contiendrait des molécules protéiques orientées à activité ATP-asique. Le stimulus mécanique provoquerait des changements conformationnels dans ces molécules et, par là, une modification de leur activité ATP-asique.

Le principe le plus général de la mécanochimie biologique stipule l'existence d'une relation entre cette dernière et l'activité enzyma-

tique des corps moteurs: protéines contractiles et régulatrices. Comme nous l'avons vu (chapitre 6), l'activité enzymatique est déterminée par les propriétés conformationnelles de la protéine, par les interactions électrono-conformationnelles. Il s'ensuit qu'un changement de conformation provoqué par une contrainte mécanique exercée sur la protéine, doit faire varier son activité enzymatique. Cela a été démontré par des expériences directes. Quand de la myosine est déformée dans le champ hydrodynamique d'un dynamooptimètre (p. 87), son activité ATP-asique change. L'ultrason exerce un effet sensible sur l'activité des enzymes.

Des phénomènes analogues doivent évidemment avoir lieu lors de la réception acoustique.

Les protéines contractiles, avant tout l'actine, figurent également dans certains autres tissus et cellules. L'actine constitue 20 % de toutes les protéines des neurones du poulet. L'actine ou une protéine actinoïde sont présentes dans le sac embryonnaire, les poumons, la peau, le cœur, le pancréas, les reins et le tissu cérébral du poulet. Des protéines actinoïdes et myosinoïdes ont été isolées de la thrombosténine, de l'ensemble des protéines contractiles des thrombocytes de l'homme.

Tous ces faits viennent confirmer la thèse générale sur la nécessité du mouvement mécanique dans les phénomènes vitaux et sur l'analogie des mécanismes de ce mouvement dans les systèmes biologiques les plus divers.

§ 12.7. Réception auditive

La réception auditive se ramène également à des phénomènes mécanochimiques. La transformation des ondes sonores longitudinales en influx nerveux est précédée d'une série de processus, dont nous allons parler.

Les vertébrés possédant le sens de l'ouïe sont relativement peu nombreux. L'organe de l'ouïe de l'homme et des autres mammifères est constitué d'à peu près la même façon (fig. 12.23). Cet organe, l'oreille, sert également d'organe de l'équilibration. On distingue usuellement l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne (labyrinthe). L'oreille externe se compose du pavillon et du conduit auditif externe. Sa fonction consiste à orienter l'énergie sonore dans la bonne direction et à préserver les oreilles moyenne et interne du milieu extérieur. Ces parties sont séparées de l'oreille externe par une membrane fine en tissu conjonctif, dite tympan ; le tympan vibre sous l'action des ondes sonores. L'oreille moyenne est une petite cavité qui renferme trois osselets très durs : le marteau qui est en contact avec le tympan, l'enclume et l'étrier qui touche à la membrane de la fenêtre ovale, orifice qui communique avec l'oreille interne. L'oreille moyenne communique également avec le pharynx par la

trompe d'Eustache qui sert à égaliser la pression de part et d'autre du tympan.

L'origine évolutive de l'oreille est assez singulière. L'oreille moyenne et la trompe d'Eustache ont initialement fait partie de l'appareil respiratoire des poissons, les trois osselets fonctionnels ont été un élément de l'appareil de soutien des agnathes (cyclostomes : lamproies et myxines). En ce qui concerne les cellules sensibles aux sons, elles seraient issues des cellules sensibles au déplacement du liquide. Autant d'exemples frappants d'une réorganisation évolutive conférant une fonction nouvelle à un organe.

L'oreille interne est constituée par un système complexe de conduits et cavités, le labyrinthe, dont une partie, dite limaçon, a la

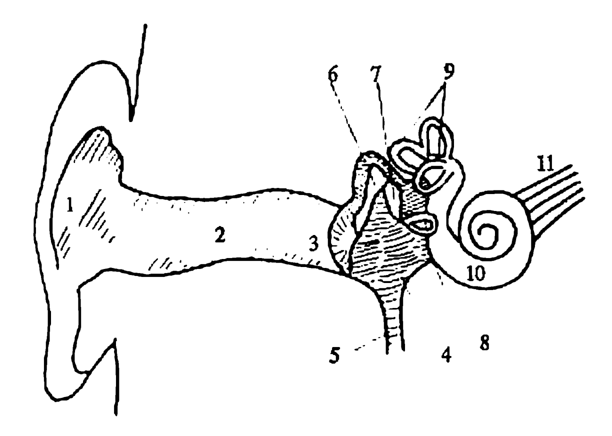


Fig. 12.23. Schéma de l'oreille humaine:
1 — oreille externe, *2* — conduit auditif, *3* — tympan, *4* — cavité de l'oreille moyenne, *5* — trompe d'Eustache, *6* — marteau, *7* — enclume, *8* — étrier, *9* — canaux semi-circulaires, *10* — limaçon, *11* — nerf auditif

forme d'un tube long d'environ 3,5 cm, enroulé en une spirale de 2,5 spires. L'oreille interne est remplie d'un liquide, la lymphe. Le limaçon comporte trois canaux séparés par des membranes minces. La fenêtre ovale mentionnée est située à la base d'un de ces canaux. Au début d'un autre canal on trouve un second orifice, la fenêtre ronde, également fermé par une membrane et communiquant avec l'oreille moyenne. Le troisième canal du limaçon renferme le récepteur auditif, l'organe de Corti, constitué par quelque 24 000 cellules sensitives portant des poils. Ces cellules tapissent la membrane basilaire.

Dans l'oreille interne les ondes sonores qui se sont propagées dans l'air sont transformées en vibrations longitudinales de la lymphe. La résistance acoustique ρv (ρ étant la densité du milieu, v la vitesse du son) de l'air est 1000 fois plus petite que celle de l'eau

(la lymphe). Il faut que les vibrations de l'air soient transformées en celles de la lymphe de telle sorte que les deux résistances coïncident. Cela se produit dans l'oreille moyenne. Le tympan capte les vibrations de l'air et, par l'intermédiaire des osselets mentionnés, transforme les ondes sonores de façon à diminuer l'amplitude des vibrations acoustiques tout en augmentant leur pression. La fonction transformatrice de l'oreille correspond au rapport des aires du tympan et de la fenêtre ovale. La dureté élevée des osselets a une valeur déterminante. Le tympan de l'homme, avec les osselets et l'oreille interne, s'avère adapté à la résistance acoustique de l'air dans le domaine des fréquences de l'ordre de 1 kHz.

Von Bekesy a confirmé l'idée de Helmholtz sur la localisation des vibrations de haute et de basse fréquence dans deux régions différentes du limaçon. Comme le montre l'étude microscopique de l'organe de Corti, les fibres de la membrane basilaire ont une longueur différente suivant la partie de la spirale du limaçon qui les abrite: sous ce rapport, l'oreille interne est faite comme une harpe ou un piano. Le fonctionnement du système est donc fondé sur la résonance des vibrations dans une partie déterminée de la membrane basilaire et l'effet sur les cellules ciliées. L'onde de pression provoque, au bout du compte, l'irritation de ces cellules ciliées qui engendrent l'influx nerveux.

Von Bekesy a établi que les ondes qui apparaissent dans l'oreille ne sont pas stationnaires, mais mobiles. Les ondes mobiles de déplacement transversal de la membrane basilaire se forment, avec une amplitude très petite, au niveau de la fenêtre ovale, croissent lentement, atteignent leur maximum en un point déterminé, puis décroissent rapidement. Les formes des ondes mobiles varient en fonction des fréquences: la position spatiale de l'amplitude maximale change avec la fréquence du son, se déplaçant vers la membrane ovale, lorsque la fréquence augmente. C'est ainsi que se produit une première analyse des fréquences.

Dans ses expériences von Bekesy appliquait de la poudre d'argent sur la membrane basilaire et déterminait l'amplitude des vibrations d'après le flou de l'image microscopique. En imposant au tympan une amplitude des vibrations supérieure de millions de fois à celle des vibrations acoustiques de seuil, von Bekesy a estimé, en extrapolant, l'amplitude de seuil des vibrations de la membrane basilaire. Cette amplitude s'est avérée incroyablement petite: de l'ordre de quelques millièmes de nm, i.e. inférieure de plusieurs ordres de grandeur à la taille de l'atome. Il s'agit là du déplacement d'une grande portion de la membrane, dont on prend la moyenne sur l'espace, i.e. sur un grand nombre d'atomes, et sur le temps. Il a été démontré que ces déplacements surpassent sensiblement ceux déterminés par le bruit d'agitation thermique.

La figure 12.24 présente le schéma de fonctionnement des cellules

sensorielles ciliées (qui ont près de 10 μm de diamètre et près de 50 μm de long, la longueur des cils atteignant environ 3 μm). Les bases des cellules sont fixées sur la membrane basilaire, les extré-

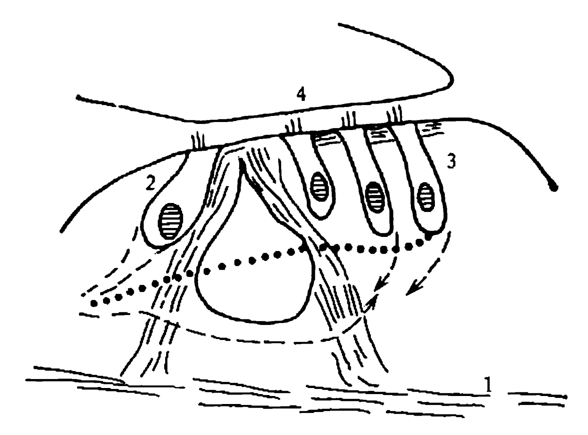


Fig. 12.24. Schéma du fonctionnement des cellules ciliées:
1 — membrane basilaire, *2* — cellule ciliée interne, *3* — trois cellules ciliées externes, *4* — membrana tectoria

mités des cils sur une membrane spéciale, la *membrana tectoria.* Lorsque la membrane basilaire vibre, les cellules se déplacent et les cils — les stéréocils — se replient. Ce mouvement est transmis aux parties terminales des cellules nerveuses en provoquant l'apparition de l'influx nerveux.

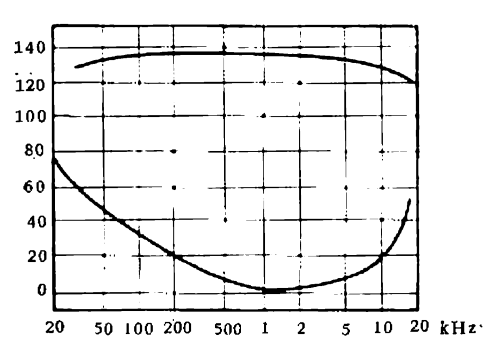


Fig. 12.25. Domaine des sons audibles pour l'homme.

En abscisses on porte les fréquences, en ordonnées les niveaux d'intensité par rapport au niveau de $2 \cdot 10^{-4}$ dyn/cm² (décibels). La courbe inférieure traduit le seuil d'audibilité et la courbe inférieure, le seuil de la sensation douloureuse

D'après Pasetchnik, c'est le canal ionique de la membrane cellulaire qui sert de dispositif mécanosensible élémentaire. Sa réaction à l'extension de la membrane se réduit à une variation des probabilités des transitions entre les états fermé et ouvert du canal. On a pu, en effet, démontrer par voie expérimentale que la flexion des cils produit une dépolarisation des membranes accompagnée d'un accroissement du bruit électrique. Un stéréocil commande quarante canaux ioniques. On a pu simuler ces phénomènes mécanochimiques à l'aide d'une membrane lipidique artificielle en double couche avec des canaux ioniques incorporés.

Cependant, on ne sait pas encore, comment l'ATP-ase K, Na-activée fonctionne dans ce cas. On peut penser que ce processus est semblable à celui qui a lieu lors de la réception tactile, dans les corpuscules de Pacini (p. 87).

Entendre c'est savoir distinguer les fréquences et les intensités des vibrations acoustiques. La gamme des fréquences audibles présente des variations importantes suivant les organismes. Ainsi, la sauterelle réagit aux sons, dont les fréquences sont comprises entre 10 Hz et 100 kHz, pour la grenouille il s'agit des fréquences entre 50 Hz et 30 kHz. Chez les oiseaux, la limite supérieure de perception sonore est de l'ordre de 15 à 20 kHz; chez les chauves-souris elle atteint 100 à 150 kHz. On trouvera sur la figure 12.25 le diagramme d'audibilité pour l'homme. A la différence de certains animaux, l'homme ne perçoit pas les ultrasons.

§ 12.8. Biomécanique

La biomécanique qui est un domaine de la biologie et de la physique, présente un rapport direct avec les phénomènes mécanochimiques. Ici nous nous limiterons à mentionner les principaux problèmes biomécaniques.

Les mouvements des vertébrés sont le résultat du fonctionnement d'un système complexe de muscles, tendons, os. L'étude de ces mouvements implique la résolution d'une série de problèmes de la mécanique des systèmes à articulations complexes, de l'hydro et de l'aérodynamique, de la régulation automatique. Le système de mouvement d'un animal comporte aussi bien des parties rigides (endosquelette des vertébrés, exosquelette chitineux des arthropodes) que des parties flexibles. Les dernières sont présentes, avant tout, dans les articulations. Les systèmes correspondants forment des *chaînes cinématiques*: ensembles de chaînons assemblés de telle façon que lorsqu'un des chaînons est fixé et un autre est mis en mouvement, tous les autres ne peuvent se mouvoir que de la manière prescrite. Des chaînes cinématiques forment les extrémités et les crânes de type cinétique que l'on trouve chez beaucoup de lézards, serpents et oiseaux. Les crânes cinétiques comportent des articulations mobiles.

La tâche de la technique consiste à construire des mécanismes aptes à effectuer certains mouvements déterminés. Les biologistes ont souvent affaire au problème inverse: il s'agit de comprendre le mécanisme qui est à la base du mouvement observé. Ces mécanismes, créés par la nature, sont extrêmement complexes, comme en témoigne, par exemple, le modèle qui reproduit le mouvement des ailes de la mouche (fig. 12.26).

Les caractéristiques mécaniques des matériaux et des mécanismes utilisés par les organismes pour assurer leur mouvement, sont diver-

ses. Les squelettes, interne ou externe, doivent posséder une certaine résistance. Ainsi, le crâne du pic est conçu de façon à protéger le cerveau en amortissant les coups puissants du bec. Les os des vertébrés sont constitués de cristaux microscopiques d'*hydroxyapatite* $3Ca_3(PO_4)_2 \cdot Ca(OH)_2$, incorporés dans une structure fibrillaire de collagène. Le collagène assure une bonne résistance à la flexion.

Le collagène, les protéines contractiles et autres qui interviennent dans les mouvements des animaux présentent des propriétés viscoélastiques spécifiques. Les parois des artères et autres organes des vertébrés renferment de l'*élastine*, dont les propriétés le font ressembler à du caoutchouc. L'élastine présente une haute élasticité qui

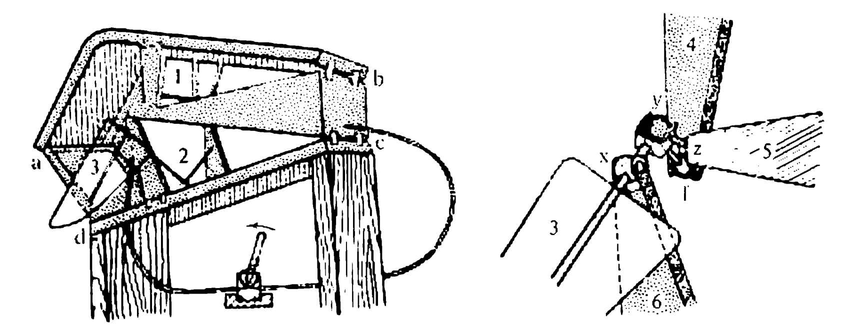


Fig. 12.26. Modèle fonctionnel qui explique le mécanisme de mouvement des ailes de la mouche:

1 — fil représentant le muscle dorsal longitudinal, *2* — élastique représentant le muscle pleurostérial, *3* — aile, *4* — tergite, *5* — bras du scutellum, *6* — pleurite; *x*, *y*, *z*, *f* — charnières

a la même nature entropique que celle du caoutchouc (v. § 3.1). Les insectes possèdent, dans le thorax, une protéine dite *résiline* qui a aussi des propriétés analogues à celles du caoutchouc: son module d'élasticité est proche du module d'élasticité du caoutchouc et son élasticité est, pratiquement, entièrement entropique. Quand le criquet vole, la majeure partie de l'énergie cinétique que les ailes perdent au terme de leur mouvement vers le haut se transforme en l'énergie potentielle de déformation élastique de la résiline, redevenant ensuite énergie cinétique des ailes qui descendent. Lors du saut d'une puce sa patte postérieure, en se levant, comprime une petite boule de résiline. C'est un mouvement relativement lent, dû à la contraction d'un muscle; puis la patte est subitement libérée par un déclencheur spécial. La résiline joue ici le même rôle que le caoutchouc dans un lance-pierre.

Les propriétés viscoélastiques des matières protéiques sont très importantes pour les mouvements des vertébrés et des invertébrés.

Le déplacement des animaux dans l'air et dans l'eau est le résultat de l'évolution des systèmes biologiques adaptés à la résolution

des problèmes de l'aéro et de l'hydrodynamique, problèmes qui sont encore, parfois, hors de la portée des mécanismes artificiels. La peau du dauphin possède des propriétés spéciales permettant de réduire la résistance de l'eau à l'avancement de l'animal. Le vol ramé et plané des oiseaux a servi à l'homme de modèle pour construire des appareils volants. La science qui se consacre à l'application technique des mécanismes créés par la nature vivante, est dénommée *bionique*. Les bases de la bionique avaient été jetées par Léonard de Vinci qui dessinait des ailes qui permettraient à l'homme de voler. Ce fut, d'ailleurs, lui qui fonda la biomécanique, en étudiant, pour la première fois, la marche, la course et les sauts de l'homme.

L'étude biomécanique présente un grand intérêt pour la technique et pour la médecine, notamment, en ce qui concerne l'apesanteur dans les vols spatiaux. Citons l'exemple de la prothèse du bras qui fonctionne en utilisant les courants bioélectriques (Gourfinkel). La biomécanique est un des plus importants domaines de la biophysique, mais son exposé détaillé sort du cadre du présent livre.

CHAPITRE 13

BIOÉNERGÉTIQUE DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE

§ 13.1. Oxydation biologique

Les phénomènes bioénergétiques conduisant à la synthèse de l'ATP, à la « recharge des accumulateurs biologiques », se déroulent dans les membranes des *mitochondries*. C'est là que sont localisés et organisés dans l'espace les systèmes moléculaires responsables de l'énergétique des organismes vivants. La synthèse d'ATP dans les mitochondries est associée au transport électronique et ionique, ainsi qu'à des phénomènes mécanochimiques. Les fonctions des membranes mitochondriales sont très complexes et variées. Un autre type de membranes bioénergétiques de couplage, les membranes des chloroplastes des végétaux, responsables de la photosynthèse, est considéré au chapitre 14.

C'est la respiration, oxydation de composés organiques par l'oxygène de l'air, qui fournit l'énergie que la cellule utilise pour couvrir tous ses besoins. Lavoisier démontra en 1780 que respiration et combustion ont la même nature. Au cours de deux siècles passés les travaux de chimistes, biologistes et physiciens ont abouti à découvrir les particularités principales de l'oxydation biologique.

Le « combustible » (les substances à oxyder) arrive dans l'organisme animal avec la nourriture, sous forme de lipides, glucides et protéines. Ces substances se décomposent par hydrolyse sous l'action d'enzymes appropriés. Ainsi, les acides gras sont activés, avec intervention d'enzymes et de l'ATP, en se transformant en dérivés acylés du coenzyme A (p. 41). L'oxydation du dérivé acylé CoA-SH passe par plusieurs étapes, chacune conduisant à la formation d'un résidu acide gras comportant deux carbones de moins que le résidu de l'étape précédente. L'équation totale de la réaction d'oxydation d'un acide gras à nombre pair de carbones en acétyl-S-CoA est de la forme

$$\mathrm{H_3C(CH_2CH_2)}_n\mathrm{CO_2H} + \mathrm{ATP} + (n+1)\mathrm{CoA\text{-}SH} + n\mathrm{NAD^+} + n\mathrm{E\cdot FAD} + n\mathrm{H_2O} \longrightarrow (n+1)\mathrm{H_3CCOS\text{-}CoA} + \begin{pmatrix}\mathrm{ADP}+\mathrm{P_i}\\ \mathrm{AMP}+\mathrm{PP_i}\end{pmatrix} + n\mathrm{NADH} + n\mathrm{E\cdot FAD}\ \text{réduit} + n\mathrm{H^+}.$$

Ici NAD est le coenzyme nicotinamide-adénine-dinucléotide (p. 41), E l'enzyme, FAD le coenzyme flavine-adénine-dinucléotide. Les corps gras donnent finalement, par décomposition, l'acétyl-CoA, ainsi que le propionyl-CoA et le glycérol.

La décomposition et l'oxydation des glucides (notamment, de l'amidon) aboutissent aux triosophosphates et à l'acide pyruvique (pyruvate). La destruction des protéines donne, à côté des amino-acides individuels, l'acétyl-CoA, l'oxaloacétate, l'α-cétoglutarate, le fumarate et le succinate (l'acide succinique). La biochimie moderne connaît en détail ces processus métaboliques (§ 2.10).

Les produits de ces réactions subissent des transformations ultérieures dans un système cyclique de réactions dénommé cycle de l'acide citrique (cycle d'acides tricarboxyliques) ou *cycle de Krebs.* Ce système est localisé dans les mitochondries.

Le cycle de Krebs est représenté sur la figure 13.1. Au cours de huit réactions qui le composent (on les a indiquées à l'aide de chiffres), on observe la dégradation d'une molécule d'acétyl-CoA ou d'une molécule de pyruvate en CO_2 et H_2O: la « combustion » de ces molécules.

Le cycle de Krebs est le point de départ de nombreuses réactions biosynthétiques: synthèse des glucides, des lipides, des purines, des pyrimidines et des porphyrines. La synthèse des protéines est également liée au cycle, au cours duquel se forment les précurseurs d'une série d'acides aminés. L'oxydation biologique sert en même temps de source d'énergie emmagasinée dans l'ATP.

Dans les réactions du cycle on voit apparaître CO_2 et des ions H^+. Parallèlement, il y a réduction des coenzymes NAD et FAD. Pour assurer une oxydation biologique ininterrompue et complète, il faut que ces coenzymes soient oxydés de nouveau. L'oxydation est réalisée par l'ensemble des transporteurs d'électrons formant la *chaîne respiratoire* ou la *chaîne de transport d'électrons* (CTE). La CTE assure les réactions suivantes:

$$3\text{NADH} + 1{,}5\text{O}_2 + 3\text{H}^+ \rightarrow 3\text{NAD}^+ + 3\text{H}_2\text{O} - 3\cdot 220{,}1 \text{ kJ/mol},$$

$$(\text{FAD réduit}) + 0{,}5\text{O}_2 \rightarrow (\text{FAD}) + \text{H}_2\text{O} - 152{,}0 \text{ kJ/mol}.$$

La réaction de l'acétyl-CoA a la forme

$$\text{Acétyl-S-CoA} + 3\text{O}_2 \rightarrow 3\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{HS-CoA} - 903{,}9 \text{ kJ/mol}.$$

La CTE est un système à enzymes multiples acceptant les électrons qui proviennent du cycle de Krebs et du cycle d'oxydation des acides gras. L'électron est transporté le long de la chaîne

Substrat ⟶ NAD ⟶ Flavoprotéine$_D$ ⟶ Cytochrome b ⟶

↑

Succinate ⟶ Flavoprotéine$_S$ ⟶┘

⟶ Cytochrome c_1 ⟶ Cytochrome c ⟶ Cytochromes $a + a_3$ ⟶ O_2.

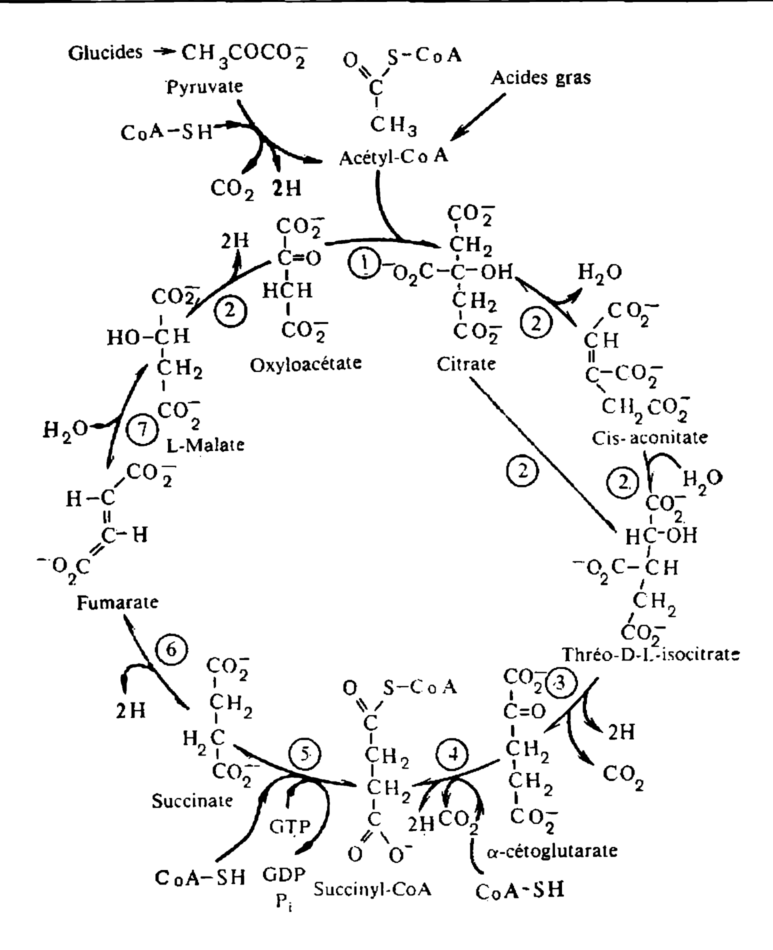


Fig. 13.1. Cycle de Krebs

Les *flavoprotéines* contiennent des coenzymes à flavine: le FAD (fig. 13.2) et le flavine-mononucléotide FMN, le riboflavine-5'-phosphate. Les cytochromes renferment l'hème, dont l'atome de fer est oxydé et réduit lors du fonctionnement de la chaîne:

$$Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + e^-.$$

Dans la chaîne mentionnée le transport d'électrons se fait de gauche à droite, sa phase finale étant la réduction de l'oxygène qui se combine avec H^+ pour former l'eau. L'électron libéré par l'oxydation se fixe sur le chaînon suivant. Le transport d'électrons s'accompagne

d'une variation de l'énergie libre, car les électrons se déplacent le long d'une série de potentiels redox croissants. Leurs valeurs figurent dans le tableau 13.1.

Le transfert d'électrons est associé à l'emmagasinage d'énergie dans les molécules d'ATP. En d'autres termes, l'énergie libérée

Fig. 13.2. Flavine-adénine-dinucléotide (FAD)

devient énergie chimique de l'ATP. C'est la phosphorylation oxydative qui se produit alors.

Ce phénomène d'importance capitale fut découvert par Engelhardt en 1930. Belitser et Tsybakova effectuèrent en 1939 les premières déterminations du facteur P : O, rapport du nombre de molécules de phosphate inorganique estérifié au nombre d'atomes d'oxygène absorbé ; ils trouvèrent que la valeur de ce facteur était supérieure à 2. On a appris par la suite que le facteur P : O est égal à trois dans le cas des réactions d'oxydation du cycle de Krebs et des réactions avec intervention de NAD. Comme l'a établi Lehninger,

Tableau 13.1

Potentiels d'oxydoréduction

Système	φ, V	Système	φ, V
$H_2O/{}^1/_2O_2$	0,82	Flavine réd./flavine	—0,185
Cyt. *a* Fe^{2+}/Fe^{3+}	0,29	Lactate/pyruvate	—0,19
Cyt. *c* Fe^{2+}/Fe^{3+}	0,23	NAD réd./NAD	—0,32
Cyt. c_1 Fe^{2+}/Fe^{3+}	0,21	Malate/pyruvate	—0,33
Cyt. *b* Fe^{2+}/Fe^{3+}	0,05	${}^1/_2H_2/H$	—0,42
Succinate/fumarate	—0,03	Acétaldéhyde/acétate	—0,60
Glutamate/α-cétoglutarate	—0,14		

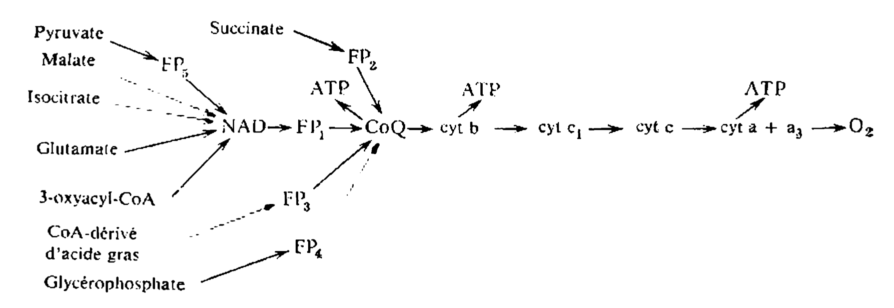


Fig. 13.3. Chaîne respiratoire. Les flèches droites indiquent les sites d'entrée des électrons.
FP — flavoprotéines, CoQ — coenzyme Q.

les processus de phosphorylation oxydative sont localisés dans les mitochondries; c'est lui qui a déterminé les points cruciaux de la chaîne respiratoire, sièges de la phosphorylation. La valeur indiquée de P : O découle de l'équation

$$NADH + H^+ + 3Pi + 3ADP + 0{,}5O_2 \rightarrow NAD + 4H_2O + 3ATP.$$

Cette équation est la somme de la réaction exergonique

$$NADH + H^+ + 0{,}5O_2 \rightarrow NAD^+ + H_2O + 221{,}3 \text{ kJ/mol}$$

et de la réaction endergonique

$$3ADP + 3P_i \rightarrow 3ATP + 3H_2O - 92{,}0 \text{ kJ/mol.}$$

La phosphorylation se produit dans trois points du cycle: NADH → → flavoprotéine, cytochrome *b* → cytochrome c_1 et cytochrome *c* → → cytochromes $a + a_3$.

Le schéma général de l'oxydation combinée avec la phosphorylation est donné sur la figure 13.3.

Récrivons l'équation brute

$$ADP + P_i^- + H^+ \rightleftarrows ATP + H_2O - \Delta G.$$

La variation d'énergie libre est égale à

$$\Delta G = \Delta G_0 + RT \ln \frac{[ADP][H_2PO_4^-][H^+]}{[ATP][H_2O]}, \qquad (13.1)$$

où

$$\Delta G_0 = -RT \ln K \approx 30{,}7 \text{ kJ/mol,}$$

K est la constante d'équilibre pour les concentrations 0,1 M, pH 7,0, 25 °C. Les changements du pH et de la force ionique font varier ΔG.

La variation de l'énergie libre lors du transfert de deux équivalents électroniques le long de la CTE du NADH à O_2 est définie par la différence des potentiels d'oxydoréduction 0,82 — (—0,32) =

= 1,14 (V), soit

$$\Delta G = z\,\Delta\psi = -\,2\cdot 23{,}06\cdot 4{,}79\ \text{kJ/mol} = -221{,}3\ \text{kJ/mol}.$$

Cette énergie est largement suffisante pour synthétiser trois moles d'ATP. Le rendement du processus vaut 92/221,3 (soit ~40 %). L'énergie emmagasinée dans l'ATP est utilisée par la cellule pour exécuter le travail chimique, électrique, de transport et mécanique.

La découverte du chimisme de l'oxydation biologique est un des plus grands succès de la biochimie.

Le trait particulier de la *phosphorylation oxydative* qui la distingue des réactions enzymatiques en solution consiste dans la locali-

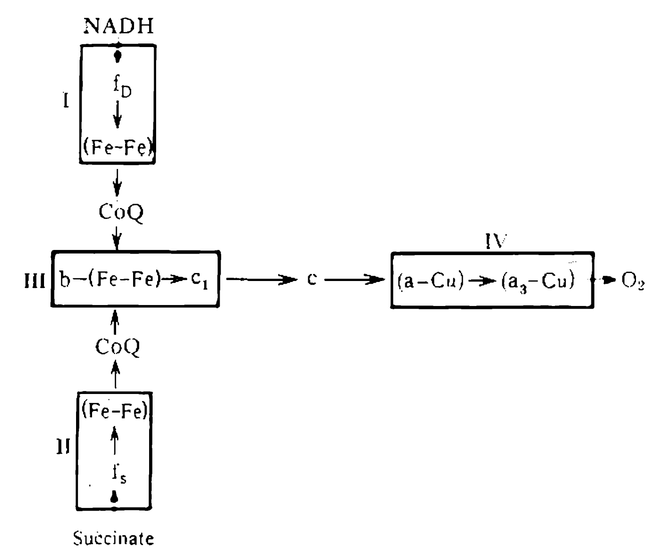


Fig. 13.4. Répartition des protéines dans les éléments *I*, *II*, *III*, *IV* de la CTE: a, b, c, c_1, a_3 — cytochromes, Cu — cuproprotéines, (Fe-Fe) — fer non héminique, f_s — succinate-déshydrogénase, f_D —NADH-déshydrogénase

sation spatiale des différents chaînons de ce processus à plusieurs stades. La phosphorylation oxydative, localisée dans les mitochondries, est directement liée à la fonctionnalité de leurs membranes.

On a pu déchiffrer les réactions d'oxydoréduction, dont nous venons de donner une description sommaire, en appliquant des techniques physiques et chimiques très fines. Il est lieu de mentionner ici les importants travaux de Chance portant sur la spectroscopie des transporteurs d'électrons (NAD, FP, cytochromes) dans les mitochondries intactes. Ces transporteurs possèdent des bandes d'absorption caractéristiques dans le visible et dans l'ultraviolet proche. Les spectres différentiels permettent d'étudier la cinétique de leurs

oxydation et réduction. On a utilisé des procédés divers pour éliminer les enzymes spécifiques des mitochondries afin de ne maintenir que des chaînons déterminés du processus. Les mitochondries étaient dépecées, puis on isolait, à partir des *particules submitochondriales*, des ensembles d'enzymes respiratoires débarrassés des protéines structurales. Ces ensembles peuvent être épurés et étudiés en détail. On a effectué avec succès des expériences, au cours desquelles la CTE était reconstituée à partir des échantillons isolés et d'enzymes solubles. Enfin, on a obtenu une information précieuse dans des expériences, où l'on inhibait des stades isolés du processus et où l'on séparait la phosphorylation oxydative du transfert d'électrons.

Les carriers de la CTE seraient groupés en quatre ensembles dits *complexes de Green*. Le schéma correspondant est donné sur la figure 13.4. La masse moléculaire de chaque complexe est voisine de $3 \cdot 10^5$, il renferme près de 64 % de protéines et 36 % de lipides. Un tel complexe de transfert d'électrons est défini comme l'unité minimale de la CTE, qui est apte à transporter l'électron avec une vitesse comparable à celle qu'on observe dans les mitochondries intactes.

La structure et l'organisation fonctionnelle des mitochondries ont fait l'objet d'une étude intense. Cependant, on n'a pas encore de réponses à plusieurs questions importantes qui s'y rattachent. La structure membranaire spécifique des mitochondries, le fait qu'elles possèdent un programme autonome de la synthèse de protéine (ADN), leur activité mécanochimique sont en rapport direct avec leur rôle de « centrales productrices d'énergie » de la cellule.

§ 13.2. Structure et propriétés des mitochondries

Les mitochondries figurent dans toutes les cellules aérobies des animaux et des végétaux, à l'exception de quelques bactéries primitives, où la fonction des mitochondries est remplie par la membrane plasmique. D'une cellule à une autre le nombre de ces organites est variable : de 20 à 24 dans les spermatozoïdes jusqu'à 500 000 dans la cellule de l'amibe géante *Chaos chaos*. La cellule de *E. coli* n'a qu'une seule mitochondrie. Le nombre de mitochondries est caractéristique de chaque espèce donnée ; il est probable que la mitose s'accompagne de la division des mitochondries et de leur répartition régulière entre les cellules-filles. La forme, la structure et les dimensions des mitochondries sont également variables. Elles possèdent toujours un système de membranes internes dites *crêtes*. La figure 13.5 présente sous une forme schématisée la mitochondrie provenant du foie du rat. Elle est longue d'environ 3 μm, la largeur étant comprise entre 0,5 et 1 μm. Elle est donc bien visible au microscope optique. Sa masse sèche moyenne est de 10^{-13} g. L'aire totale de toutes les crêtes est égale à 16 μm², celle de la membrane externe à 13 μm².

La cellule du foie renferme près de 1000 mitochondries, la surface totale des membranes mitochondriales s'élève donc à quelque 29 000 μm^2, 10 fois la surface de la membrane cellulaire. L'espace intérieur libre de crêtes est rempli de *matrice*. Les mitochondries renferment ce qu'on appelle « granules compacts » qui résultent, probablement, de l'accumulation d'ions différents, dont, notamment, Ca^{2+}.

Dans les mitochondries on a trouvé un ADN; il s'y produit une synthèse d'ARN dépendant d'ADN. On trouve dans les mitochondries

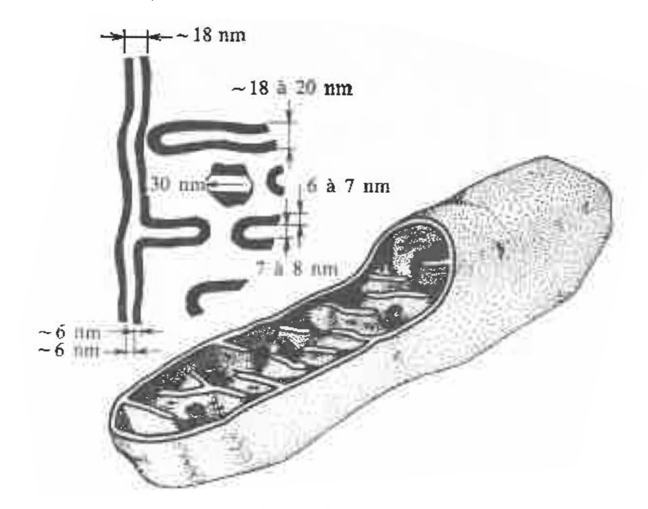


Fig. 13.5. Schéma d'une mitochondrie

le système complet de la biosynthèse des protéines: elles comportent des ARNt, des aminoacyl-ARNt-synthétases et des ribosomes.

Les membranes des mitochondries sont plus minces que la plupart des membranes cellulaires: elles ont près de 5 nm d'épaisseur. On a déterminé par microscopie électronique que les membranes internes et les crêtes sont recouvertes de particules sphériques ou polyédriques ayant un diamètre de 8 à 10 mn et fixées sur les membranes à l'aide de pédicules ayant les dimensions (2 à 4) $\times$ (4 à 5) nm^2. Ces éléments structuraux sont très nombreux, jusqu'à 10^4 à 10^5 dans une mitochondrie; ils occupent 10 à 15 % de son volume. La « tête », le « pied » et encore un élément, le « support », forment la particule élémentaire de la mitochondrie. Ces particules élémentaires sont visibles sur la figure 13.6. qui représente les crêtes mitochondriales vues au microscope électronique. Mais il n'est pas à exclure que ce ne sont que des artefacts dus aux techniques d'accentuation du contraste.

29—01676

Les mitochondries renferment 50 à 60 enzymes qui catalysent les réactions de la CTE, etc. Une protéine structurale, semblable à celle de la myéline et des membranes bactériennes, constitue près de 40 % de l'ensemble des protéines mitochondriales.

La masse sèche des mitochondries comporte 15 à 50 % de lipides, dont 90 % sont des phospholipides.

Pour localiser les enzymes oxydants dans les mitochondries, on détruisait ces dernières par l'action de détergents ou de l'ultra-son.

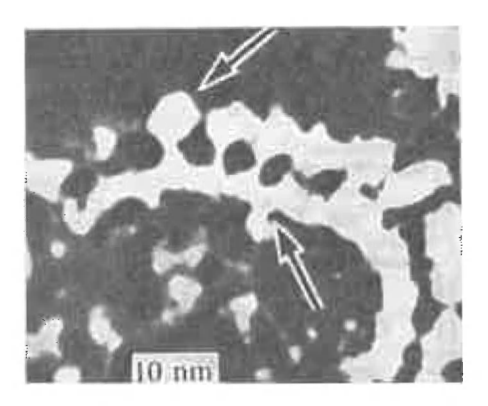


Fig. 13.6. Microphotographie électronique des crêtes.
La flèche supérieure indique la tête, la flèche inférieure le support de la particule élémentaire

Les cytochromes et les flavoprotéines de la chaîne respiratoire sont détectés dans les particules insolubles qui appartiendraient aux membranes. Par contre, les enzymes du cycle de Krebs (déshydrogénases, etc.) sont contenus dans la partie soluble. On peut donc conclure que ces derniers sont localisés à proximité des crêtes ou à leur surface, tout en restant facilement détachables.

Les crêtes sont des involutions des membranes internes repliées vers l'intérieur. Le nombre et l'aire des crêtes sont directement liés à l'intensité de la respiration cellulaire. Leurs formes présentent une grande variabilité. Les mitochondries des muscles de vol des insectes possèdent une surface développée des crêtes compactement assemblées; la respiration de ces cellules est 20 fois plus intense que celle des cellules du foie, dont les mitochondries contiennent relativement peu de crêtes. La mitochondrie de la cellule du foie renferme près de 17 000 ensembles respiratoires, vu la quantité de ses cytochromes. On dénombre 650 ensembles par micromètre carré de la surface de la membrane interne, chaque ensemble occupant 40×40 nm^2.

Comme le montre la microscopie à contraste de phase, les mitochondries des cellules vivantes subissent des variations des dimensions et de la forme au cours de la respiration. On y observe des cycles

de gonflage et de rétrécissement de deux types. Un cycle réversible de faible amplitude, où le volume varie de 1 à 2 %, est caractéristique de toutes les espèces de mitochondries *in vitro*. Le gonflage se produit à l'état de repos, en l'absence d'ADP. L'addition d'ADP provoque la contraction et la phosphorylation oxydative de l'ADP. Le cycle est bloqué par les découpleurs de la phosphorylation oxydative.

Dans le cycle de grande amplitude le volume de la mitochondrie peut varier de plusieurs fois. On l'observe aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. La contraction des mitochondries est déclenchée par l'addition d'ATP. Le phénomène est directement lié à la respiration: à la phosphorylation oxydative. Il existe un parallélisme direct dans l'inhibition de la contraction et de la phosphorylation oxydative par l'oligomycine.

Ces processus mécanochimiques se ramènent à transformer l'énergie chimique en travail mécanique. Il y a une analogie très poussée entre l'activité ATP-asique des membranes mitochondriales et l'activité du système contractile actomyosinique des muscles squelettiques. Leurs propriétés mécanochimiques sont semblables: les deux systèmes se contractent sous l'action de l'ATP. On pouvait donc supposer que les membranes mitochondriales contenaient des protéines contractiles similaires à l'actomyosine. Cette hypothèse a été confirmée: une protéine contractile a été isolée des mitochondries. On a démontré que les protéines contractiles interviennent dans la mécanochimie mitochondriale, mais il s'est trouvé en même temps qu'un rôle important revient ici au lipide des membranes, le phosphatidylinositol.

Les travaux de l'école de Lehninger ont démontré une participation directe du transport de cations au fonctionnement des membranes des mitochondries. Au cours de la respiration il y a accumulation de grandes quantités de Ca^{2+} venant du milieu extérieur qui est bloquée par ses inhibiteurs, ainsi que par les découpleurs de la phosphorylation oxydative. La quantité de Ca^{2+} venant de l'extérieur est fonction de celle de l'oxygène absorbé, le phosphate étant également accumulé parallèlement à l'accumulation de Ca^{2+}, dans le rapport $Ca^{2+}: P_i = 1{,}67$ (rapport qui correspond à l'oxyapatite). Comme le montre l'étude par microscopie électronique, les mitochondries peuvent emmagasiner des granules de phosphate de calcium.

Il existe une relation directe et exacte entre les quantités accumulées de P_i et de Ca^{2+} et le nombre d'électrons passant à travers la CTE. Le passage de chaque paire d'électrons à travers chacun de trois centres d'emmagasinage d'énergie correspond à l'accumulation, dans la chaîne, de 1,67 ions Ca^{2+} et d'une molécule de P_i. Ce processus alterne avec la phosphorylation oxydative. Ca^{2+} agit donc comme son *découpleur*.

En petites quantités les ions Ca^{2+} stimulent, par contre, le processus respiratoire. Le transport de Ca^{2+} est lié à celui des cations H^+, K^+ et Na^+.

§ 13.3. Couplage chimiosmotique

Comme nous venons de le dire, la phosphorylation oxydative dans les mitochondries est combinée avec le transport ionique. Il s'agit là d'un système de processus conjugués et non pas d'une réaction chimique isolée. Slater (1953) a supposé que l'oxydation conduisait à ce qu'il appelait *macroergs primaires*, substances intermédiaires à énergie libre excédentaire, intervenant dans la phosphorylation. Ces substances n'ont pas été trouvées et le mécanisme physique du processus hypothétique a demeuré obscure. On a donc abandonné l'hypothèse chimique de Slater.

La *théorie chimiosmotique de Mitchell* (1961) est largement reconnue. Elle part de trois postulats.

Premièrement, la phosphorylation n'aurait lieu que dans les membranes contenant des vésicules fermées. La membrane sépare l'espace intérieur de la vésicule de l'espace extérieur. Elle est peu perméable aux protons.

Deuxièmement, le transfert d'électrons entre les différents éléments de la CTE s'accompagnerait du transfert de protons à travers la membrane. Les carriers seraient disposés d'une façon asymétrique par rapport aux deux faces de la membrane. La force protonomotrice constituerait le macroerg primaire:

$$\Delta\tilde{\mu}_H = \tilde{\mu}_H^{\text{entrée}} - \tilde{\mu}_H^{\text{sortie}} = RT \ln [H^+]^{\text{entrée}} / [H^+]^{\text{sortie}} + \\ + \mathscr{F}\Delta\psi = -2{,}3RT\,\Delta pH + \mathscr{F}\,\Delta\psi. \quad (13.2)$$

Troisièmement, on suppose que $\Delta\tilde{\mu}_H$ détermine la synthèse de l'ATP à l'aide d'un enzyme lié à la membrane, l'ATP-*synthétase*. L'enzyme agit de façon vectorielle en formant un canal qui ouvre le passage aux protons. La synthèse d'une molécule d'ATP implique le passage d'un nombre élevé de protons.

L'action de l'enzyme est réversible. Lors de l'hydrolyse de l'ATP les protons sont transportés dans le sens inverse et la membrane est énergisée.

Avant d'examiner la théorie de Mitchell, considérons la description thermodynamique générale du couplage.

Lorsqu'il y a couplage de deux processus — oxydation (o) et phosphorylation (p) — il vient (cf. p. 321)

$$\begin{aligned} J_o &= L_{11}\frac{\mathscr{A}_o}{T} + L_{12}\frac{\mathscr{A}_p}{T}, \\ J_p &= L_{12}\frac{\mathscr{A}_o}{T} + L_{22}\frac{\mathscr{A}_p}{T}. \end{aligned} \quad (13.3)$$

On trouve

$$\frac{J_p}{J_o}=\frac{q+lx}{l^{-1}+qx}, \tag{13.4}$$

où q est le degré de couplage:

$$q=\frac{L_{12}}{\sqrt{L_{11}L_{22}}}, \tag{13.5}$$

$l = (L_{22}/L_{11})^{1/2}$, x étant le rapport des affinités:

$$x = \mathcal{A}_p/\mathcal{A}_o. \tag{13.6}$$

Lors du couplage complet $q = 1$ et $J_p/J_o = l$, indépendamment de x. Comme on l'a vu, $P/O = J_p/J_o$, i.e. la consommation d'un atome

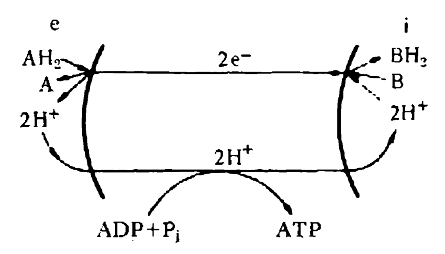


Fig. 13.7. Schéma du couplage chimiosmotique selon Mitchell: i, e sont respectivement les faces interne et externe de la membrane

d'oxygène correspond à la synthèse de trois molécules d'ATP. Par conséquent, $l = 3$. En l'absence de couplage, $q = 0$ et $J_p/J_o = l^2x = 9\mathcal{A}_p/\mathcal{A}_o$. Si le couplage est incomplet, $0 < q < 1$ et le rapport P/O est une fonction non linéaire de x. L'expérience fournit une valeur de q voisine de 1.

En tenant compte du transport de protons, on a à considérer trois flux (on ajoute le flux de H^+). La fonction de dissipation prend la forme

$$\sigma = T^{-1}(J_p\mathcal{A}_p + J_o\mathcal{A}_o + J_H\Delta\tilde{\mu}_H), \tag{13.7}$$

$\Delta\tilde{\mu}_H$ étant tiré de la formule (13.2). Les réactions chimiques d'oxydation et de phosphorylation sont couplées au flux vectoriel de protons: les coefficients L_{OH} et L_{PH} diffèrent de zéro.

La figure 13.7 schématise le couplage chimiosmotique selon Mitchell. C'est la membrane qui assure le couplage. Le donneur d'hydrogène AH_2 (par exemple, l'ascorbate) est oxydé par le transporteur d'électrons (tel le cytochrome c) devant la face externe de la membrane. Deux électrons sont transportés à travers la membrane par la chaîne respiratoire et transmis, par l'intermédiaire de la cytochrome-oxydase, à l'accepteur d'hydrogène B (à l'oxygène). L'accepteur fixe deux protons de la phase interne de la matrice mitochondria-

le. Il se crée ainsi un gradient de concentrations en protons : un excès de protons dans la phase liquide externe et un manque de protons dans la phase interne. Cela détermine le transfert de protons dans le sens inverse, d'où résulte la phosphorylation. La synthèse d'une molécule d'ATP conduit à l'absorption de deux protons de la phase externe et à la libération de deux protons dans la matrice. La membrane mitochondriale fonctionne comme une *pile à combustible*, où la différence de potentiels électrochimiques est créée par un processus d'oxydoréduction.

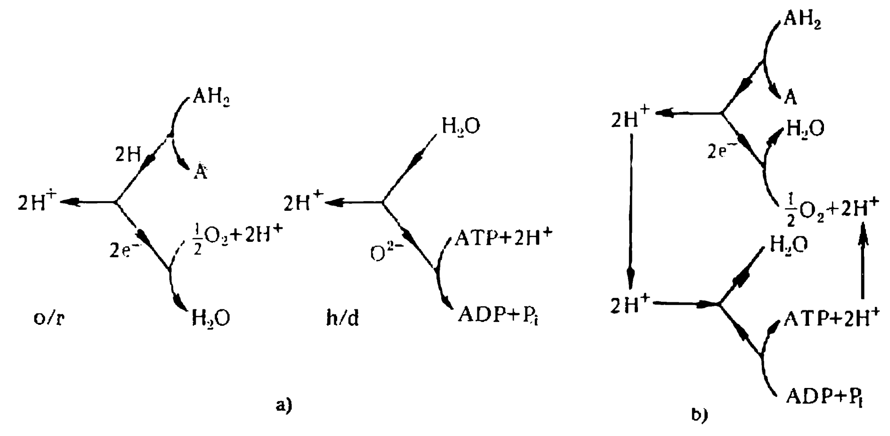


Fig. 13.8. Détail du schéma de Mitchell:
a) boucles *o/r* et *h/d*; *b*) couplage des deux processus

La théorie de Mitchell se fonde sur la considération des relations d'équilibre. La différence d'énergies libres du système se compose du travail chimique et du travail osmotique (de transport) :

$$\Delta G = \Delta G_{\text{chim}} + \Delta G_{\text{osm}}, \tag{13.8}$$

où

$$\Delta G_{\text{osm}} = \sum_j \nu_j (\tilde{\mu}_j - \mu_j^0) + \sum_i \nu_i (\tilde{\mu}_i - \mu_i^0). \tag{13.9}$$

La sommation sur j s'étend à tous les produits, celle sur i à tous les réactifs ; μ_j^0 et μ_i^0 sont les potentiels chimiques standards, ν_j et ν_i les coefficients stœchiométriques. Si le transfert ne concerne qu'un seul constituant, la force généralisée appliquée s'écrira

$$\Delta\tilde{\mu} = -\Delta G_{\text{osm}}/\nu. \tag{13.10}$$

On peut considérer le schéma de la figure 13.3 comme constitué par deux boucles (fig. 13.8, *a*) : celle d'oxydoréduction (respiration, boucle *o/r*) et celle d'hydrogénation-déshydrogénation (déphosphorylation, boucle *h/d*). La conjugaison des deux processus au moyen du

transport protonique est représentée sur la figure 13.8, *b*. Selon (13.10), on a à l'équilibre

$$\Delta\tilde{\mu}_H = -\Delta G_{osm}/2 = \mathscr{F}\Delta\psi. \qquad (13.11)$$

Dans les processus *o/r* et *h/d*

$$-(\Delta G_{osm})_{o/r} = -(\Delta G_{osm})_{h/d} = 2\Delta\tilde{\mu}_H. \qquad (13.12)$$

Le potentiel électrochimique total de chaque constituant s'écrit

$$\tilde{\mu}_i = pV_i + z_i\mathscr{F}\psi + \mu_i^0 + RT \ln c_i, \qquad (13.13)$$

où p est la pression, V_i le volume molaire, z_i la charge du constituant, c_i la concentration (l'activité). Le terme $V_i\ \Delta p$ étant relativement petit, la force généralisée totale conduisant à l'équilibre de l'i-ème constituant dans la phase externe et dans la matrice est

$$\Delta\tilde{\mu}_i \approx z_i\mathscr{F}\Delta\psi + RT\ \Delta \ln c_i. \qquad (13.14)$$

Pour les protons, en passant au pH, on obtient la formule (13.2):

$$\Delta\tilde{\mu}_H = -2{,}3RT\ \Delta\ \mathrm{pH} + \mathscr{F}\Delta\psi.$$

A l'équilibre $\Delta\tilde{\mu}_H = 0$ et on tire de (13.14)

$$\Delta\psi \equiv \varphi = \frac{RT}{z_i\mathscr{F}} \ln \frac{c_i^{(e)}}{c_i^{(i)}}, \qquad (13.15)$$

ce qui est la formule de Nernst-Donnan que nous connaissons déjà (p. 358).

Lorsque la synthèse d'ATP est couplée au transfert de deux charges électroniques (cela découle du rapport expérimental $P_i/2e^- = 1$ pour chaque centre de phosphorylation), la valeur nécessaire ne peut être inférieure à 200 mV. Pour une épaisseur membranaire de l'ordre de 10 nm on observera dans la membrane une intensité du champ électrique égale au moins à $2\cdot10^5$ V/cm. La valeur $\varphi = 200$ mV est équivalente à une contribution de Δ pH $= 3{,}5$ à la force protonomotrice totale.

Mitchell a aussi considéré le couplage des flux de protons et de cations ayant les sens opposés (« antiport ») et celui des flux de protons et d'anions ayant le même sens (« symport »).

Des travaux récents ont été consacrés à une détermination méticuleuse du nombre de protons, du nombre de charges et du nombre de molécules d'ATP par chacun des trois centres de couplage dans la CTE (cf. p. 446). En utilisant divers donneurs et accepteurs d'électrons, on est parvenu aux résultats schématisés sur la figure 13.9. Chaque centre de couplage possède une *pompe à protons* qui sépare 4 charges (4 protons passent du cytoplasme dans la matrice) : le rapport

H^+/centre = 4 dans les trois centres. Lorsque deux électrons (e^-) traversent le centre I, il y a séparation de deux charges et synthèse d'une molécule d'ATP; le centre II libère, pour $2e^-$, une demi-molécule d'ATP et sépare deux charges; le centre III libère, toujours pour $2e^-$, 1,5 molécule d'ATP et sépare 6 charges.

La théorie de Mitchell s'est vue confirmée par quelques résultats qualitatifs. Liberman et col. ont étudié le transport d'ions à travers des membranes phospholipidiques artificielles. En présence d'ions

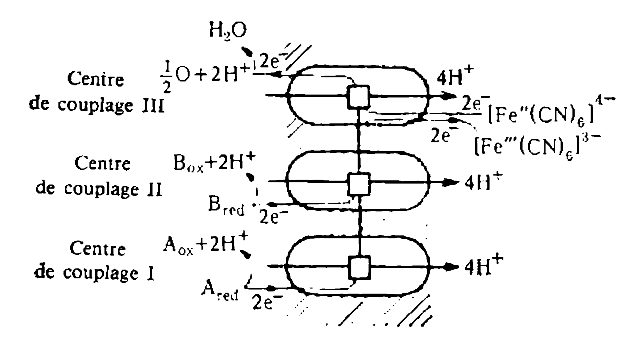


Fig. 13.9. Libération des protons et séparation des charges dans trois centres de couplage.

Les carrés représentent les mécanismes inconnus du couplage du transfert de e^- et H^+

synthétiques à charge écranée par des substituants hydrophobes, tels que le tétrabutylammonium $N^+[(CH_2)_3CH_3]_4$ ou le tétraphénylborate $B^-(C_6H_5)_4$, la conductivité électrique du système augmente considérablement. Ces ions diffusent rapidement à travers les membranes. On a étudié le transport de ces ions à travers les membranes mitochondriales (MM) et les particules submitochondriales (PSM) issues du traitement des mitochondries à l'ultrason. Il se trouve que les MM et les PSM s'orientent dans les sens inverses. Le cytochrome *c* est localisé sur la face externe des MM et sur la face interne de la membrane des PSM. On peut penser que l'espace intramitochondrial est chargé négativement et l'espace intérieur des PSM positivement. L'énergisation des PSM par addition d'ATP provoque l'absorption des anions synthétiques et leur désénergisation par l'inhibiteur de la respiration (actinomycine) ou par le découpleur de la phosphorylation oxydative (un dérivé du phénylhydrazone) provoque la sortie des anions. Le transport d'électrons dans les membranes des PSM est accompagné de l'absorption d'anions synthétiques. Leur transport est perturbé, à son tour, par les inhibiteurs du transport électronique et les découpleurs de la phosphorylation oxydative.

En général, l'expérience met en évidence l'existence d'un transport ionique dépendant de l'énergie dans les membranes assurant le couplage. Son mécanisme ne dépend pas de la structure des ions

capables de traverser les membranes phospholipidiques. L'inversion de l'orientation des membranes par rapport au milieu environnant (MM et PSM) conduit à la réorientation des flux ioniques dirigés contre les gradients de concentration ionique.

D'après la théorie de Mitchell, le transfert de protons et d'électrons à travers la membrane a peu d'effet sur le pH. Le transport d'électrons (le processus d'oxydation) s'arrête sous l'action du champ électrique créé par l'excès de charges négatives de l'autre côté de la membrane. Le transfert d'électrons est de nouveau activé, lorsque ce champ (le potentiel membranaire) diminue. On peut obtenir ce résultat en faisant déplacer les cations à travers la membrane. Cela doit conduire à un gradient de pH, car le transfert de chaque cation monovalent s'accompagnera de la libération d'un proton dans le milieu extérieur. Lorsqu'on ajoute, aux mitochondries, des cations synthétiques pénétrants, on voit augmenter la concentration du milieu en H^+. Les variations du pH disparaissent en présence de découpleurs. Quand la chaîne respiratoire fonctionne, le milieu s'acidifie. Il a donc été établi que l'énergisation de la membrane de couplage crée un potentiel transmembranaire $\Delta\psi$ et une différence Δ pH.

Selon la théorie chimiosmotique, l'énergie de la respiration, dont la forme chimique a été transformée en forme électrique et osmotique, peut retrouver sa forme chimique par synthèse d'ATP ou par un transfert inverse d'électrons. Le processus bioénergétique est réversible et l'expérience le confirme. Il se produit une phosphorylation ionique qui utilise l'énergie électrique ou osmotique libérée le long du gradient de concentration, lorsque les ions traversent la membrane.

La diminution de $\Delta\psi$ doit avoir pour effet une perturbation de la conjugaison de l'oxydation et de la phosphorylation. C'est à cela que se ramène l'action des découpleurs. Tels sont le dinitrophénol (DNP) et certains autres corps. Le DNP agit évidemment à la façon d'un carrier de protons. Si le schéma de Mitchell est valable, tout acide et toute base faibles doivent provoquer une rupture du couplage. En effet, les découpleurs font croître la conductibilité protonique des MM. On a mis en évidence une analogie poussée entre les membranes phospholipidiques artificielles et les membranes internes des mitochondries.

Dans les expériences effectuées dans les laboratoires de Liberman et de Skoulatchev on déterminait la disposition de la chaîne respiratoire d'après son aptitude à créer le potentiel membranaire. On introduisait dans le milieu divers donneurs et accepteurs d'électrons incapables de traverser la membrane. Il s'est avéré que ces substances n'interagissent qu'avec le cytochrome *c* dans les mitochondries. On a établi qu'il y a effectivement un transport de protons et/ou d'électrons dans la chaîne respiratoire. D'autres expériences ont permis de

localiser les différents constituants dans la membrane des mitochondries. La figure 13.10 représente la localisation probable de la chaîne.

Suivant l'hypothèse chimiosmotique, tout système de couplage doit créer un potentiel électrochimique d'ions H^+. En effet, les

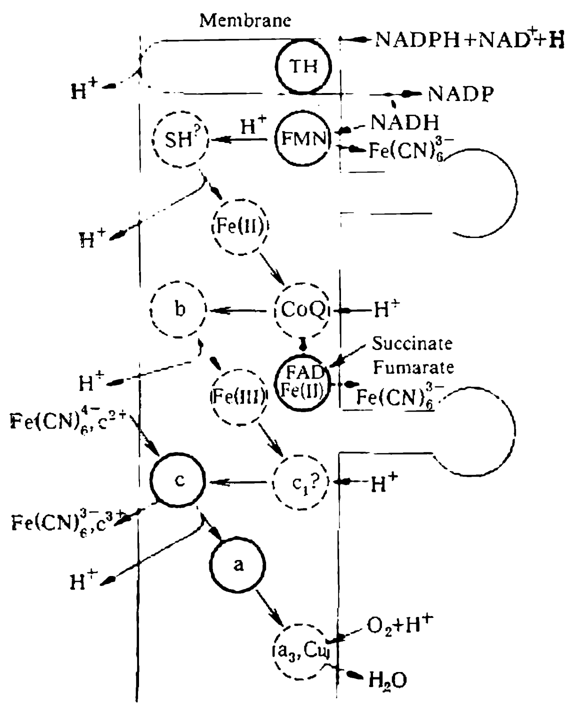


Fig. 13.10. Localisation probable de la chaîne respiratoire dans la membrane mitochondriale :

TH — transdéhydrogénase ; a, a_3, c, c_1, b — cytochromes ; FMN — flavinmononucléotide ; Fe — complexes de fer non héminique ; Cu — cuproprotéines

expériences avec des ions synthétiques pénétrants ont montré l'apparition de $\Delta\psi$ dans mitochondries, PSM, chloroplastes (v. chapitre 14) et membranes bactériennes.

Par ailleurs, la théorie de Mitchell rencontre des difficultés et suscite des controverses. Selon l'argumentation de Blumenfeld, la « machine de Mitchell » serait impossible dans une phase condensée. Dans une telle machine l'ATP-synthétase utilise la différence de concentrations en protons de la phase aqueuse de part et d'autre de la membrane pour exécuter un travail extérieur. C'est une machine entropique qui reçoit l'énergie à partir d'un thermostat sous la forme de l'énergie cinétique des protons. Les protons se déplacent de pré-

férence le long du gradient de concentration et transmettent leurs impulsions aux parties mobiles de la machine; la différence de potentiel $\Delta\psi$ est utilisée pour produire des protons « chauds » riches en énergie. L'écart correspondant à l'équilibre selon Boltzmann est peu probable car la relaxation des degrés de liberté thermiques excités est très rapide: 10^{-11} à 10^{-12} s. L'ATP-synthétase serait donc une machine entropique d'un autre type, où l'énergie venant du thermostat lors de l'interaction proton-synthétase se transforme en un accroissement local de l'énergie potentielle. Le travail extérieur ne peut être exécuté que si l'acte élémentaire sur les deux faces de la membrane conduit à une différence de potentiel $\Delta\psi$. L'ATP-synthétase qui interagit avec les protons doit fonctionner comme une électrode à hydrogène et tout le système d'utilisation de la différence de concentrations des protons Δ pH comme une pile galvanique de concentration. Le seul moyen d'utiliser les deux constituants de $\Delta\tilde{\mu}_H$ consiste à créer un champ électrique commun; les protons qui se déplacent à l'intérieur de l'ATP-synthétase doivent s'amasser dans un accumulateur de nature inconnue jusqu'à ce que l'énergie accumulée soit suffisante pour synthétiser une molécule d'ATP. Mais Δ pH ne peut être utilisé pour déplacer l'équilibre chimique: la totalité de l'énergie libre de l'état hors d'équilibre a été utilisée pour former le champ.

Il n'est pas clair, non plus, comment le processus « négatogène » (transfert de protons suivant le gradient de μ_H) peut assurer l'accumulation de l'énergie (dans l'ATP) sans sa dissipation.

Ainsi, malgré ses succès incontestables, la théorie chimiosmotique suscite encore maintes études quantitatives.

Indépendamment des résultats de ces études, l'importance de la théorie chimiosmotique est grande. Elle a puissamment stimulé l'investigation de la bioénergétique des membranes de couplage tout en permettant d'expliquer une série de faits relatifs à la bioénergétique et à la photobiologie (v. §§ 14.3, 14.4, 14.8).

§ 13.4. Interactions électrono-conformationnelles

Dans les systèmes moléculaires le déplacement des électrons est toujours accompagné d'un déplacement des noyaux atomiques. Nous avons déjà constaté (Chapitre 6) l'existence d'interactions électrono-conformationnelles (IEC) dans les systèmes biopolymères. Le mouvement de l'électron et de la densité des charges dans un système biopolymère tel qu'une membrane, associé à des mouvements conformationnels, peut être traité en tant que le déplacement d'une quasi-particule, le *conformon* (p. 212). Il existe des raisons qui poussent à considérer la phosphorylation oxydative dans la CTE en partant de ces concepts.

Green et Ji (1972) ont proposé un modèle électromécanochimique de la structure et de la fonction des mitochondries. On fait l'hypothèse que les particules élémentaires des mitochondries (PEM) existent dans l'état fondamental non énergisé et dans l'état excité énergisé. L'énergie libre de chaque état se compose des énergies chimique, électrique et mécanique. Les transformations réciproques de ces contributions sont déterminées par les IEC. Toutefois, le modèle concret de Green et Ji n'est qu'hypothétique.

Blumenfeld et col. ont mis en évidence des transformations conformationnelles dans les membranes mitochondriales (ils ont utilisé les spectres RPE des membranes avec des marqueurs de spin, les spectres de luminescence, etc.). On a démontré une haute coopérativité de ces transformations et l'existence de transitions structurales thermiques dans les PSM.

Blumenfeld (1972) a émis l'hypothèse sur les *transitions conformationnelles par relaxation* dans les membranes mitochondriales. Supposons que l'acte élémentaire consiste à fixer l'électron sur un site actif (par exemple, sur le groupe hème du cytochrome). A la forme neutre de la macromolécule correspond la conformation d'équilibre I et à la forme chargée (réduite) une autre conformation II. Le transfert de l'électron est beaucoup plus rapide que le changement conformationnel. Par conséquent, lors d'un acte élémentaire il se forme un état conformationnel hors d'équilibre: l'électron a déjà passé, alors que la conformation n'a pas eu le temps de changer. Puis il y a une relaxation lente vers l'état II. La transition entière peut être schématisée comme suit (le signe moins correspond à l'électron):

$$\mathrm{I} \xrightarrow[\text{rapidement}]{} \mathrm{I}^- \xrightarrow[\text{lentement}]{} \mathrm{II}^- \xrightarrow[\text{rapidement}]{} \mathrm{II} \xrightarrow[\text{lentement}]{} \mathrm{I}.$$

L'énergie libérée par l'acte élémentaire est stockée sous forme d'énergie conformationnelle pendant le temps de relaxation. Il est possible que c'est en cela que consiste l'essence du macroerg primaire; alors l'hypothèse qui part des IEC s'oppose à la théorie chimiosmotique. Au cours de la relaxation l'énergie conformationnelle se transforme en énergie chimique. On suppose qu'au point de couplage il se crée un complexe labile entre le carrier et un certain groupe dans le site actif de l'enzyme de couplage, le rôle de ce groupe incombant, probablement, à l'adénine de l'ADP lié. Pendant la relaxation $\mathrm{I}^- \rightarrow \mathrm{II}^-$ le niveau énergétique de l'électron baisse, à un certain moment, jusqu'au niveau accepteur de l'adénine. Ces deux niveaux sont séparés par une barrière, mais une *transition tunnel* de l'électron sur l'adénine est possible, à travers la barrière. L'augmentation de la densité électronique sur l'adénine est suivie d'un accroissement brusque de la basicité du groupe aminé. Si le site actif de l'ATP-synthétase comporte un groupement électrophile (tel le carboxyle), l'adénine réagit sur ce groupement en formant une liaison amide. A l'instant suivant

de la relaxation le niveau du carrier baisse au-dessous du niveau de l'adénine et la densité électronique passe de l'adénine sur le groupement redox du même transporteur d'électrons ou de celui qui le suit dans la CTE.

Blumenfeld et Tchernavski (1973) ont étendu ce modèle à toute réaction enzymatique. Ils ont formulé un postulat, selon lequel le changement conformationnel du complexe substrat-enzyme qui suit la fixation du substrat sur le site actif de l'enzyme ne consiste pas seulement dans la rupture d'anciennes et la formation de nouvelles liaisons secondaires à l'intérieur de la macromolécule protéique, mais, aussi, dans des changements chimiques du substrat. L'acte élémentaire d'une réaction enzymatique est un changement conformationnel de la macromolécule (complexe enzyme-substrat, CES), la vitesse de la transformation substrat-produit étant fonction de la vitesse de ce changement de conformation. On peut représenter la rupture catalytique de la liaison A-B du substrat par une suite de quatre étapes:

$$\mathrm{A{-}B} + \mathrm{E} \xrightarrow{1} (\mathrm{A{-}B})\,\mathrm{E} \xrightarrow{2} \mathrm{A}\tilde{\mathrm{E}}\mathrm{B} \xrightarrow{3} \tilde{\mathrm{E}} + \mathrm{A} + \mathrm{B} \xrightarrow{4} \mathrm{E} + \mathrm{A} + \mathrm{B}.$$

Ici 1 est l'étape rapide de la formation du CES, 2 la relaxation lente de l'enzyme E vers sa nouvelle conformation $\tilde{\mathrm{E}}$, 3 le détachement rapide du produit, 4 la transition lente $\tilde{\mathrm{E}} \rightarrow \mathrm{E}$. Au cours de toutes les étapes on voit varier l'énergie libre.

Pour pouvoir édifier une théorie cinétique, il faut connaître le rôle relatif de chacun de deux mécanismes: de la transition par-dessus la barrière selon Eyring (v. § 6.1) et de l'*effet tunnel*. C'est Chance qui, le premier, a considéré le second effet du point de vue du transfert d'électron dans un système biologique (1968).

La constante de vitesse de la transition d'activation s'écrit (p. 187)

$$k_1 = \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{G^{\ddagger}}{kT}\right). \tag{13.16}$$

Le nombre d'actes de la transition tunnel par unité de temps est donné par

$$k_2 = \nu_0 \exp\left[-\frac{4\pi L}{h}\sqrt{2m_e(U-E)}\right], \tag{13.17}$$

où ν_0 est la fréquence des « vibrations » de l'électron, une quantité de l'ordre de 10^{17} s^{-1}, L la largeur de la barrière, U son hauteur, E le niveau d'énergie de l'électron, m_e sa masse. On trouvera sur la figure 13.11 le schéma des puits de potentiel de deux maillons voisins de la CTE.

La vitesse totale du transfert est définie par la somme de k_1 et k_2. Le premier terme prédomine à hautes températures, le deuxième à basses températures. Selon les estimations disponibles, $L \approx 1$ à 2 nm, $U \approx G^{\ddagger} \approx 1$ à 2 eV. Dans ces conditions $k_2 \gg k_1$. Il en découlerait que les transitions doivent être pratiquement indépendantes de la température, ce qui est contraire aux résultats expérimentaux. Cette contradiction est explicable.

Le passage tunnel de l'électron dépend de la relation entre la différence des niveaux électroniques ΔE (v. fig. 13.11) et la fission de résonance

$$\Delta E_r = E \exp\left[-\frac{2\pi L}{\hbar}\sqrt{2m_e(U-E)}\right]. \qquad (13.18)$$

Si $\Delta E \gg \Delta E_r$, la transition tunnel ne se produit pas. Lorsque $\Delta E \leqslant \Delta E_r$, cette transition dure le temps $\tau_r = \hbar\,(\Delta E_r)^{-1}$. Quand $L = 2$ nm et $U - E = 2$ eV, $\Delta E_r \approx 10^{-6}$ eV. Or, dans la CTE les valeurs de ΔE doivent être beaucoup plus élevées et une telle transition idéale est impossible. Mais le passage tunnel se produit quand même par suite de la dissipation d'énergie assurant un

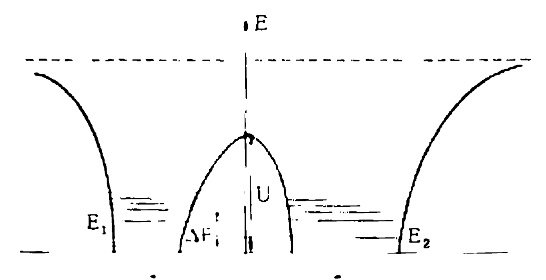


Fig. 13.11. Deux puits de potentiel non symétriques, séparés par une barrière

rapprochement des niveaux électroniques et définie par l'interaction électrono-conformationnelle. Tchernavskaïa et Tchernavski considèrent les puits de potentiel séparés du milieu ionique par une enveloppe non polaire. Supposons que c'est un seul degré de liberté vibratoire qui compte. Le quantum de vibrations E_{vib} peut être excité. Il vient alors

$$\Delta E = \hbar\omega_{\text{vib}} \equiv E_{\text{vib}} \qquad (13.19)$$

ou l'accroissement de l'énergie d'un quantum déjà existant

$$\Delta E = \Delta E_{\text{vib}} \equiv \hbar\Delta\omega_{\text{vib}}. \qquad (13.20)$$

Les valeurs de E_{vib} et de ΔE_{vib} sont de l'ordre de 0,1 eV. La probabilité d'une transition tunnel sous la condition (13.19) s'exprime par la formule

$$w = \frac{2E^2}{\hbar}\rho(\Delta E)\,g^2 \exp\left[-\frac{4\pi L}{\hbar}\sqrt{2m_e(U-E)}\right]. \qquad (13.21)$$

Ici $\rho(\Delta E)$ est la densité des niveaux de l'état final, $g^2 = 10^{-2}$ à 10^{-4} est une constante qui caractérise la « force de couplage ». Dans le cas (13.20),

$$w = \frac{E^2}{\pi\hbar}\rho\,(\Delta E - \Delta E_{\text{vib}}) \exp\left(-\frac{\hbar\omega_{\text{vib}}}{kT}\right) \exp\left[-\frac{2L}{\hbar}\sqrt{2m_e(U-E)}\right]. \qquad (13.22)$$

La valeur de w dépend de la température.

Le paragraphe suivant sera consacré à la cinétique de l'oxydo-réduction du cytochrome *c*.

Dans les systèmes biopolymères on voit surgir un conformon (p. 212). On trouvera ci-après une estimation grossière de son énergie et de ses dimensions.

Dans un milieu contenant des ions uniformément distribués de masse M qui sont en interaction coulombienne, on a (conformément au théorème du viriel) :

$$^1/_2\, Mv^2 \approx e^2/r. \tag{13.23}$$

A la vitesse v et à la distance r correspond une fréquence circulaire de vibrations

$$\omega_{\text{vib}} = \frac{v}{r} = \sqrt{\frac{8\pi}{3}\,\frac{e^2}{M}\,n}, \tag{13.24}$$

où $n = \left(\frac{4\pi}{3}\, r^3\right)^{-1}$ est le nombre d'ions par unité de volume. Entrant en interaction avec les vibrations (transitions conformationnelles) des ions, l'électron acquiert l'énergie $\hbar\omega_{\text{vib}}$ et l'impulsion

$$p = \sqrt{2m_e\hbar\omega_{\text{vib}}} = \sqrt[4]{4m_e^2\hbar^2\omega_{\text{vib}}^2},$$

m_e étant la masse de l'électron. D'après la relation d'incertitude, la taille correspondante du nuage électronique s'écrit

$$q = \frac{\hbar}{p} = \sqrt{\frac{\hbar}{2m_e\omega_{\text{vib}}}} = \sqrt[4]{\frac{3}{32\pi}}\,\sqrt[4]{\frac{\hbar^2 M}{m_e^2 e^2 n}}.$$

En introduisant le rayon de Bohr $a_0 = \hbar/m_e e^2 \approx 0{,}05$ nm, on obtient

$$q = \sqrt[4]{\frac{3}{32\pi}}\,\sqrt{\frac{Ma_0}{m_e n}} = a_0\,\sqrt[4]{\frac{3}{32\pi}}\,\sqrt[4]{\frac{M}{m_e n a_0^3}}. \tag{13.25}$$

La taille du conformon doit être du même ordre. L'énergie de polarisation a l'ordre de grandeur

$$E_p = \frac{e^2}{\varepsilon q}, \tag{13.26}$$

où ε est la permittivité microscopique. Enfin, le rapport de E_p à l'énergie des vibrations donne le nombre des quanta participant à la formation du conformon :

$$N = \frac{E_p}{\hbar\omega_{\text{vib}}}. \tag{13.27}$$

Pour les protéines la densité moyenne des charges $n \approx 10^{21}$ cm^{-3}, i.e. la distance entre les charges est de l'ordre de 1 nm. Si les charges sont portées par les protons, $M = (6{,}2\cdot 10^{23})^{-1}$ g. On peut considérer que ε vaut 3. On a $\omega_{\text{vib}} \approx 2\pi \times$ $\times\, 0{,}6\cdot 10^{13}$ s^{-1} et la taille du conformon $q \approx 1{,}5$ nm : la polarisation s'étend, pratiquement, à toute la molécule. L'énergie de polarisation $E_p \approx 0{,}35$ eV, le décalage des niveaux électroniques étant du même ordre. Enfin, $N \approx 15$.

En considérant la cinétique des transitions électrono-conformationnelles, on peut dégager quatre processus : 1) vibrations de l'électron à l'intérieur du puits avec des fréquences de l'ordre de 10^{17} s^{-1} ; 2) vibrations des atomes de fréquence $kT/h \sim 10^{13}$ s^{-1} et d'amplitude 10^{-2} à 10^{-3} nm ; les fréquences des vibrations élastiques du globule protéique sont comprises entre 10^{-12} et 10^{-11} s^{-1} ; 3) passage tunnel de l'électron, $\tau \sim 10^{-7}$ à 10^{-6} s, distances comprises entre 1 et 2 nm ; 4) transitions conformationnelles lentes dans la macromolécule, $\tau > 10^{-3}$ s.

Il est donc possible de ne pas tenir compte des processus rapides 1) à 3) et de prendre la moyenne temporelle des positions des électrons et des atomes. On s'est servi de cette procédure dans le modèle de relaxation que l'on vient de décrire. Après avoir reçu un électron, la molécule se trouve dans une conformation hors d'équilibre relaxant lentement vers l'équilibre. L'effet tunnel implique donc non pas la coïncidence des niveaux électroniques du donneur et de l'accepteur réduits, mais l'existence d'un niveau électronique virtuel, dûment disposé, de l'accepteur dans sa conformation oxydante. L'énergie libérée lors du passage tunnel se dissipe, alors que l'énergie qui est lentement dégagée au cours de la relaxation conformationnelle est convertible en celle du macroerg. L'effet tunnel, lié aux conditions de la résonance des niveaux d'énergie électroniques, subit l'influence du potentiel membranaire, d'où la possibilité d'un processus de régulation : le potentiel membranaire créé par le transport actif d'ions dépend de la vitesse de transfert d'électrons, régulée à son tour par le potentiel membranaire. Il y a donc là une rétroaction qui assure le maintien automatique du système dans les conditions proches de celles de la résonance.

Les hypothèses de Blumenfeld et de Tchernavski, fondées sur les interactions électrono-conformationnelles, diffèrent notablement des modèles de la théorie de Mitchell. La conception des IEC part de raisons physiques réelles et profondes. Toutefois, la nature de la phosphorylation oxydative demeure inexplicitée. L'étude expérimentale et théorique correspondante est donc tout à fait nécessaire.

§ 13.5. Cytochrome *c*

Le transporteur d'électrons le mieux étudié est le cytochrome *c* : hémoprotéine universelle intervenant dans les processus respiratoires de tous les organismes, de la levure à l'homme.

Les structures primaires du cytochrome *c* sont connues pour plusieurs dizaines d'organismes. Les cytochromes *c* des vertébrés renferment 104 résidus acides aminés, ceux des insectes 107, ceux des végétaux inférieurs 107 à 109 et ceux des végétaux supérieurs 111 résidus. La séquence des résidus reflète bien l'évolution biologique (v. aussi § 17.9). En règle générale, les changements évolutifs du cytochrome *c* dans toute la nature vivante se ramènent aux substitutions de résidus à l'intérieur d'une même classe (hydrophobes aromatiques, hydrophobes aliphatiques, hydrophiles basiques, hydrophiles acides, ambivalents). Cela témoigne d'une grande ressemblance de la structure spatiale de tous les cytochromes *c*.

Les cytochromes *c* sont des protéines anciennes. Au cours de leur évolution les cellules abandonnèrent les processus anaérobies pour la respiration. C'est à ce stade, il y a quelque $1{,}2\cdot10^9$ ans, que les cytochromes *c* apparurent.

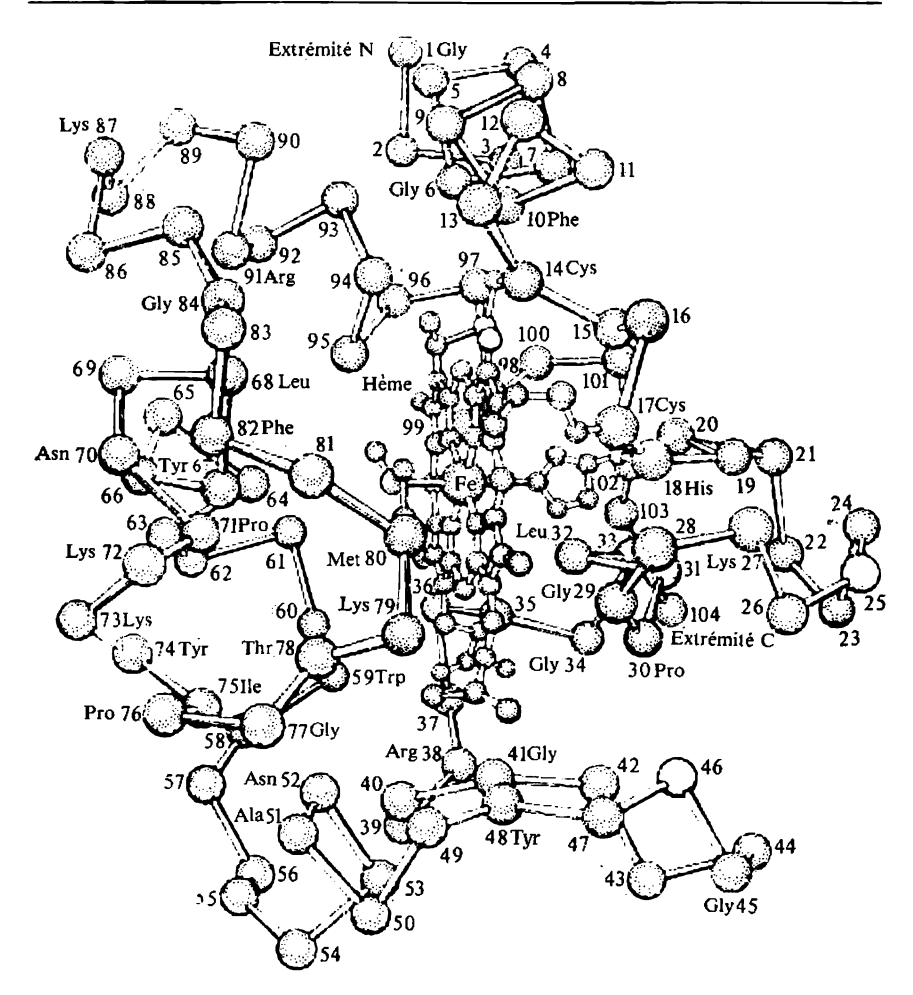


Fig. 13.12. Structure du cytochrome *c*

Une preuve de la stabilité de la structure spatiale du cytochrome *c*, stabilité due à l'évolution, est fournie par le fait que les cytochromes *c* isolés de toute cellule eucaryote, réagissent *in vitro* avec la cytochromoxydase de toute autre espèce. La structure du cytochrome *c* est montrée sur la figure 13.12. Le groupe hème est lié, par la cinquième et la sixième valence de l'atome de fer, au noyau imidazolique de His 18 et à l'atome de soufre de Met 80. L'hème possède également des liaisons covalentes avec Cys 14 et Cys 17. L'entourage immédiat de l'hème, séquence des résidus 70 à 80, est invariable.

On retrouve les mêmes résidus chez presque toutes les espèces: -Asn-Pro-Lys-Lys-Tyr-Ile-Pro-Gly-Thr-Lys-Met-.

L'idée qui vient naturellement à l'esprit est que la conformation du cytochrome *c* change lors des transitions $Fe^{2+} \rightleftarrows Fe^{3+}$. Les premiers résultats radiocristallographiques (Dickerson, Winfield) montraient que la réduction du cytochrome *c* s'accompagnait d'un changement de la position de quelques résidus aromatiques. Cette démonstration directe des IEC paraissait très attrayante. Malheureusement, ces résultats n'ont pas été confirmés. Ce n'est que tout récemment que l'on a pu mettre en évidence de faibles écarts dans la structure spatiale du cytochrome *c* oxydé et réduit, écarts qui consistent en un changement de la position de la molécule d'eau adjacente à l'hème.

Une théorie quantique des transformations redox du cytochrome a été développée dans une série de travaux, dont ceux de Jortner (1976) et de Dogonadzé et col. (1977 et avant). Jortner s'est penché sur la dépendance de l'énergie d'activation pour le transport d'électrons entre molécules biologiques avec la température. La théorie tient directement compte des IEC: on étudie les transitions à plusieurs phonons qui correspondent à des mouvements conformationnels. En bon accord avec l'expérience Jortner obtient, à basses températures, une transition électronique sans activation et l'apparition d'une forte dépendance avec la température pour une transition ayant lieu dans un domaine étroit à proximité de $kT/\hbar \langle\omega\rangle \approx 0{,}1$ à $0{,}2$, où $\langle\omega\rangle$ est la fréquence moyenne des vibrations des noyaux. La dépendance de la vitesse de transition électronique avec la température apparaît donc à partir d'une température beaucoup plus basse que la température caractéristique des vibrations.

Le travail de Dogonadzé, Kouznetsov et Ulstrup (1977) donne une théorie rigoureuse de la dynamique conformationnelle des processus de transport d'électrons et d'atomes dans les réactions biologiques. Toutefois, le calcul pratiqué sur la base de cette théorie s'avère difficile: on ne connaît pas les fonctions d'onde des systèmes concernés. Les modèles grossiers qualitatifs (p.p. 207 et 209) et les méthodes qualitatives de la chimie quantique (p. 212) présentent une grande importance pour la biophysique.

La grande actualité de l'étude des phénomènes biologiques d'oxydoréduction est tout à fait évidente. Dans ce cas plusieurs techniques expérimentales sont riches en information. La spectropolarimétrie magnétique (§ 5.8) permet, en particulier, de suivre directement les transformations des différents types de cytochromes le long de la CTE dans une suspension de particules submitochondriales.

CHAPITRE 14

PHÉNOMÈNES PHOTOBIOLOGIQUES

§ 14.1. Photosynthèse

Les processus bioénergétiques décrits précédemment, qui consistent à stocker et à dépenser l'énergie chimique de l'ATP, sont dits « obscurs », la lumière n'intervient pas dans leur déroulement. Dans ce chapitre nous allons considérer les principaux processus photobiologiques.

La photosynthèse assurée par les plantes vertes détermine l'existence de toutes les formes supérieures de la vie, car c'est à la photosynthèse que l'atmosphère terrestre doit son oxygène (v. § 17.1). L'équation générale de la photosynthèse se présente comme suit:

$$CO_2 + H_2O + \hbar\omega \rightarrow (CH_2O) + O_2 + 470 \text{ kJ/mol.}$$

Ici $\hbar\omega$ est un quantum de lumière, (CH_2O) un fragment de la molécule de glucide. Cette photoréaction libère une énergie de 470 kJ/mol. La variation de l'énergie libre est de 504 kJ/mol, la variation d'entropie est donc égale à —113 J/(mol·K) (à 300 K). La formation d'une molécule de O_2 consomme 8 quanta de lumière (v. p. 468), dont l'énergie totale est voisine de 1470 kJ/mol. Le coefficient d'utilisation de l'énergie solaire égale donc 500/1470 = 0,34. La valeur approximative de 470 kJ/mol d'énergie libérée découle du bilan suivant:

Energie de deux liaisons C=O dans CO_2	$798 \times 2 =$	1596
Energie de deux liaisons O—H dans H_2O	$462 \times 2 =$	924
Total		2520
Energie de la liaison O=O dans O_2		487
Energie de deux liaisons C—H dans le formaldéhyde CH_2O	$386 \times 2 =$	772
Energie de la liaison C=O dans CH_2O		798
Total		2057

$$2520 - 2057 = 463 \text{ kJ/mol.}$$

La même valeur est fournie par le potentiel redox de la paire $^1/_2O_2/H_2O$, égal à +0,81 eV, et de la paire $CO_2/CH_2O + H_2O$, égal à —40 eV (total = 1,21 eV). Au cours de la photosynthèse, pour réduire CO_2 en glucide, il faut faire passer 4 atomes d'hydrogène

de H_2O sur CO_2:

$$CO_2+2H_2O \rightarrow (CH_4O_2)+O_2 \rightarrow (CH_2O)+H_2O+O_2.$$

Le bilan d'énergie: $1{,}21 \cdot 4 = 4{,}84$ eV $\equiv$ 470 kJ/mol.

Ainsi, la photosynthèse des plantes vertes est une réaction entre l'oxydant CO_2 et le réducteur H_2O, dans laquelle 4 électrons (ou 4 atomes H) sont transportés vers le « haut » en surmontant une différence de potentiel de près de 1,2 V, ce qui est schématisé sur la figure 14.1. Dans la photosynthèse bactérienne H_2S peut figurer à la place de l'eau; dans ce cas la différence de potentiel de H_2S/S ne vaut que 0,2 V. La lumière fournit l'énergie nécessaire pour la réaction. Au cours de la première étape du processus la lumière est absorbée par les pigments, dont le plus important est la *chlorophylle*. Comme l'avait démontré Timiriazev, le spectre de la lumière solaire agissant lors de la photosynthèse correspond au spectre d'absorption de la chlorophylle. La figure 14.2 présente les formules structurales des plus importants pigments végétaux; la figure 14.3 montre les bandes d'absorption des pigments.

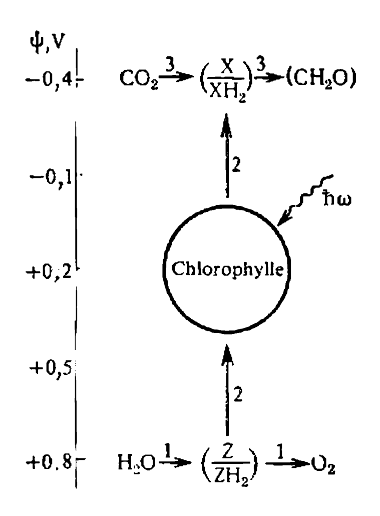


Fig. 14.1. Schéma de la photosynthèse:
1 — transformation enzymatique de H_2O en O_2, *2* — transfert de l'hydrogène de la substance intermédiaire Z/ZH_2 vers X/XH_2 dans les étapes enzymatiques successives à l'aide de la chlorophylle activée par la lumière, *3* — transformation enzymatique de CO_2 en (CH_2O)

La vitesse de photosynthèse — quantité de O_2 libérée (ou absorbée par CO_2) par unité de temps — dépend de l'intensité I de la lumière incidente. On peut dire de façon approchée que la vitesse de formation d'un substrat quelconque est proportionnelle au nombre de quanta absorbés. Ce substrat instable est ensuite transformé dans des processus enzymatiques. Comme le montre l'expérience, la production d'une molécule de O_2 exige $n \approx 8$ molécules de substrat. On compte près de 300 molécules de chlorophylle (50 dans les bactéries photosynthétisantes) par complexe enzymatique ou par molécule d'enzyme généralisé (*unité photosynthétique*).

On peut représenter la vitesse de la photosynthèse à l'aide d'une formule analogue à celle de Michaelis-Menten (p. 190):

$$v=\frac{(k_E/n)\,EI}{K+I}, \qquad (14.1)$$

Fig. 14.2. Formules structurales de quelques pigments:
A) chlorophylle *a*. Dans la chlorophylle *b* le groupe CH_3 entouré d'un cercle est remplacé par $-HC{=}O$; *B*) β-carotène; *C*) phycoérythrobiline

où k_E est la constante de vitesse de la réaction enzymatique, $n \approx 8$, E la concentration de l'enzyme. Une intensité élevée de la lumière incidente $I \gg K$ conduit à la saturation, $v_{max} = k_E E/n$. On trouve la valeur de k_E en mesurant le rendement en O_2 en fonction de la durée des intervalles temporels t_d séparant les impulsions lumineuses dans le cas d'un éclairage intermittent. Le rendement en O_2 par impulsion augmente avec t_d jusqu'à $t_d \approx 0{,}1$ s. Cette valeur corres-

pond à la saturation. L'enzyme limitant la vitesse du processus peut donc transformer pratiquement la totalité du substrat en 0,1 s. Le temps moyen nécessaire pour la transformation d'une molécule de substrat est d'environ 0,02 s. Autrement dit, $k_E = 1/0{,}02 = 50\ (s^{-1})$. La concentration $E = [Chl]/300$, $[Chl]$ étant la concentration en chlorophylle. On obtient $v_{max} = 50\ [Chl]/n \cdot 300 \approx 0{,}02\ [Chl]\ s^{-1}$. La vitesse maximale de la photosynthèse, à éclairage constant, est égale à une molécule de O_2 par molécule de chlorophylle en 50 s.

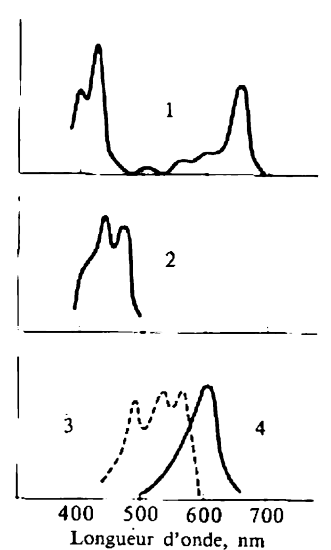


Fig. 14.3. Bandes d'absorption de la chlorophylle *a* (*1*), du caroténoïde (*2*), de la phycoérythrine (*3*) et de la phycocyanine (*4*). En ordonnées, la densité optique

Mais en réalité la photosynthèse inclut tout un ensemble de réactions enzymatiques. Si les impulsions durent 10^{-3} s, le rendement maximal du processus devient plus élevé et commence à dépendre de la température.

Les unités photosynthétiques sont localisées dans les *chloroplastes* organites spéciaux (v. § 14.4). En suspension aqueuse, en présence de sels ferriques les chloroplastes présentent la *réaction de Hill*: libération photochimique de O_2 avec intervention de l'oxydant ajouté. Un tel oxydant est non seulement Fe^{3+}, mais aussi une quinone, un colorant. L'oxydant remplace le système $CO_2/(CH_2O)$. C'est H_2O et non pas CO_2 qui fournit O_2 lors de la photosynthèse *in vivo* et *in vitro*: fait prouvé expérimentalement à l'aide d'atomes marqués ^{18}O.

La respiration (absorption de O_2) se produit en même temps que la photosynthèse. On mesure à la lumière la différence entre ces deux processus. La vitesse de la respiration ne dépend pas de l'éclairage.

Le problème fondamental de la physique et de la chimie de la photosynthèse consiste à élucider le mécanisme qui transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique. En 1948 on découvrit la *réaction de Krasnovski*: photoréduction réversible de la chlorophylle

$$Chl + AH \underset{\longleftarrow}{\overset{\hbar\omega}{\longrightarrow}} Chl^- + AH^+.$$

C'est l'ascorbate AH qui servait de réducteur (donneur d'électrons). La chlorophylle réduite peut être oxydée de nouveau. Il paraît que les molécules de chlorophylle excitées par la lumière sont réduites *in vivo* aux dépens de l'eau. La figure 14.4 représente les niveaux

électroniques de la chlorophylle. Dans l'obscurité la molécule occupe le niveau singulet inférieur S_0. Les bandes d'absorption de Chl correspondent aux transitions $S_0 \rightarrow S^*$ (dans le domaine rouge du spectre) et $S_0 \rightarrow S_1^*$ (dans le domaine bleu). La transition inverse $S_1^* \rightarrow S^*$ est non radiative, la transition $S^* \rightarrow S_0$ est fluorescente. Une transition sans radiation est possible à partir du niveau S^* sur le niveau triplet métastable T. En absorbant la lumière dans son état T, la chlorophylle passe dans l'état triplet excité T^*. Térénine a effectué une étude générale du rôle des états triplets dans la photochimie des colorants. Ce rôle est déterminé par la durée

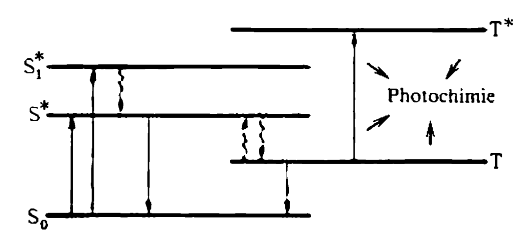


Fig. 14.4. Schéma des niveaux électoniques de la chlorophylle selon Krasnovski

de vie élevée et l'insaturation chimique par suite de la présence d'électrons non appariés. On peut représenter la photoréduction réversible de la chlorophylle par le schéma suivant:

$$\mathrm{Chl} + \hbar\omega \rightarrow \mathrm{Chl}^* \rightarrow \cdot\mathrm{Chl}\cdot(T),$$

$$\cdot\mathrm{Chl}\cdot + \mathrm{AH} \rightleftharpoons \cdot\mathrm{Chl}^- + \cdot\mathrm{AH}^+.$$

Le point correspond à un électron non apparié. L'apparition de radicaux libres lors de la photoréduction de la chlorophylle a été démontrée par la technique de RPE.

Le spectre d'absorption de Chl *a* possède une bande composée dans la région rouge. Cela fait penser à plusieurs formes de la chlorophylle. La bande rouge d'absorption se déplace, lorsque les feuilles d'une plante qui ont poussé dans l'obscurité, verdissent progressivement à la lumière. Une autre preuve de l'existence de plusieurs formes de la chlorophylle est la variation du spectre d'absorption, lorsque la chlorophylle est extraite des feuilles d'une façon graduelle.

L'énergie lumineuse absorbée par la chlorophylle et les autres pigments peut être stockée, migrer de la molécule d'un pigment vers celle d'un autre ou entre des molécules identiques, être émise (fluorescence et phosphorescence) et dissipée en se transformant en chaleur. Dans tous les cas l'acte primaire du processus photochimique est l'absorption de la lumière. Une des fonctions des pigments auxiliaires consisterait à approvisionner en énergie la chlorophylle *a*.

On appelle *spectre d'action* la dépendance de la vitesse de production d'oxygène P avec le nombre de quanta absorbés I_a et la longueur d'onde λ: c'est la fonction

$$f(\lambda) = P/I_a. \quad (14.2)$$

Si P est le nombre de molécules O_2 produites par seconde et I_a le nombre de quanta absorbés en 1 s, on a $f(\lambda) \equiv \Phi(\lambda)$, rendement quantique de la photosynthèse. La libération d'une molécule de O_2 correspond à l'absorption de 8 quanta. La courbe $\Phi(\lambda)$ pour la chlorelle est montrée sur la figure 14.5. Un phénomène caractéristique est la « *chute rouge* »: diminution rapide de $\Phi(\lambda)$ dans la région de 680 nm. On l'observe également dans le spectre d'action de la réaction de Hill.

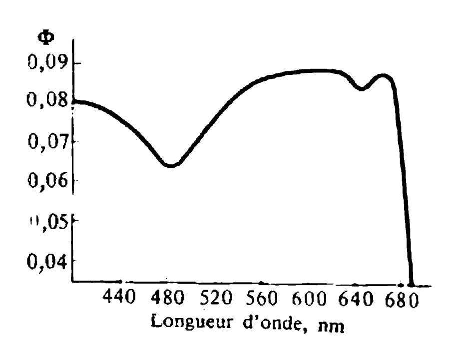


Fig. 14.5. Spectre d'action pour la chlorelle

La bande rouge de Chl *a* est constituée par deux composantes, à 670 et 680 nm, d'intensité à peu près égale. Selon certains indices, il existerait également une troisième composante, faible, à 695 nm. Ces composantes, correspondent-elles aux diverses formes de Chl *a* différant par leur efficacité photochimique, ce qui expliquerait la « chute rouge »?

La réalité est plus complexe. Il existe un *effet Emerson* qui consiste en ce que la lumière, inefficace dans le rouge lointain, devient efficace, lorsque le système est éclairé, en même temps, avec une lumière de longueur d'onde plus courte, tel l'effet combiné de la lumière à $\lambda = 700$ et 650 nm. L'action de la double irradiation est nettement non additive. On exprime l'effet Emerson à l'aide de la quantité

$$\varepsilon = (x - y)/z,$$

où x est la vitesse de libération de O_2 lors de la double irradiation, y cette vitesse pour l'irradiation ondes courtes et z la vitesse pour l'irradiation ondes longues. La valeur de ε est particulièrement élevée, lorsque la plus grande partie de la lumière ondes longues supplémentaire se trouve absorbée par un pigment auxiliaire. L'efficacité de la photosynthèse est complète, quand pour un quantum absorbé par la chlorophylle *a* il y a un quantum absorbé par le pigment auxiliaire. La chute rouge a lieu dans le domaine où seule la chlorophylle *a* absorbe la lumière. Toutefois, une étude attentive a montré qu'à côté des maximums de $\varepsilon(\lambda)$ correspondant aux pig-

ments auxiliaires, la bande d'absorption de Chl *a* possède un maximum à 680 nm. Ce maximum est lié à la transition résonnante d'énergie d'excitation des autres pigments sur la forme active de Chl *a*.

§ 14.2. Deux systèmes photochimiques

On tire des faits exposés l'hypothèse sur deux systèmes photochimiques intervenant dans la photosynthèse: SPI et SPII. Dans les plantes vertes le système SPII renferme Chl *a* avec les maximums d'absorption à 670 et 680 nm, mais non pas à 695 nm. Le SPI contient les trois formes de Chl *a*. Le SPII présente une fluorescence forte, celle du SPI est faible. Les quanta absorbés par la chlorophylle à 670 et 680 nm passent, dans le SPI, sur Chl *a* 695 et leur énergie est dissipée, ce qui explique sa faible fluorescence. Le SPII renferme plus de Chl *a* 670 que le SPI. Les deux systèmes absorbent la lumière simultanément, mais dans des proportions différentes. Lorsque $\lambda >$ > 650 nm dans les algues rouges et $\lambda > 680$ nm dans les algues vertes, le système I reçoit un surplus d'énergie et le système II une énergie insuffisante: l'équilibre, nécessaire pour le fonctionnement commun des deux systèmes, est perturbé. Cet équilibre s'améliore, quand on applique simultanément une lumière à ondes plus courtes. C'est ainsi qu'on explique l'effet Emerson et la « chute rouge ».

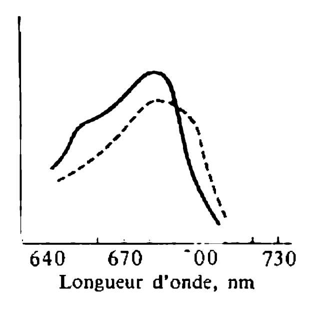


Fig. 14.6. Spectres d'absorption pour les systèmes photochimiques I (trait interrompu) et II (trait continu) dans la chlorelle. En ordonnées, la densité optique

Lorsque les photoréactions déterminées par les systèmes SPI et SPII se déroulent de façon successive, il est possible d'établir le spectre d'absorption de chaque système en mesurant les spectres d'action de la photosynthèse sous un effet fort mais non saturant de la lumière absorbée par l'autre système. Dans ce cas la vitesse de la réaction totale dépend du processus limitatif. Si l'excès de lumière est absorbé par le SPI, la vitesse de réaction et le spectre d'action sont limités par le SPII, et inversement. En utilisant ce procédé, on a déterminé les spectres d'absorption des deux systèmes (fig. 14.6). Le SPI contient plus de Chl *a* 680 et 695 nm, le SPII plus de Chl *a* 670 nm et de Chl *b*. Il ne faut pas croire que la chlorophylle *a* 670 sensibilise une des réactions et la chlorophylle *a* 680 l'autre. Les deux réactions sont liées l'une à l'autre par un processus obscure relativement lent. L'effet Emerson est également observé, lorsque deux faisceaux lumineux perpendiculaires l'un à l'autre et de lon-

gueurs d'onde différentes entrent dans le récipient de réaction. Dans ces conditions les temps d'absorption de la lumière ondes courtes et de la lumière ondes longues par les cellules des algues ne sont pas les mêmes. L'effet Emerson se manifeste, lorsqu'on éclaire les algues de façon discontinue, avec une lumière de longueurs d'onde différentes, les impulsions étant espacées de plusieurs secondes. Dans les algues rouges *Porphyridium* la libération de O_2 sous l'action de la lumière verte s'amplifie, si cette dernière est précédée par une impulsion de lumière rouge, absorbée par la chlorophylle *a* dans le SPI. Il y a donc formation d'un composé intermédiaire à longue durée de vie. On évalue sa période de demi-vie à 18 s. Une impulsion

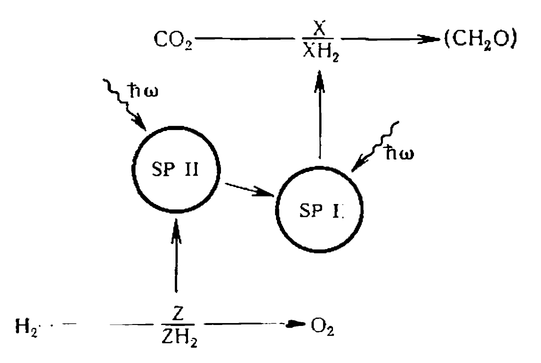


Fig. 14.7. Schéma de la photosynthèse à deux stades, sensibilisés par SPI et SPII

rouge précédée par une impulsion verte ne fait pas croître le dégagement de O_2 : la lumière verte, absorbée par le SPII, ne crée pas de composés intermédiaires à longue période.

La figure 14.7 représente un schéma de la photosynthèse qui précise le schéma de la figure 14.1.

Comment les quanta absorbés sont-ils répartis entre les deux systèmes de façon à avoir les mêmes vitesses de fonctionnement ? Il paraît que les systèmes SPI et SPII sont séparés dans l'espace, comme en témoignent les expériences de fractionnement de la matière des chloroplastes. C'est la présence dans les deux systèmes de mêmes pigments qui détermine leur excitation équilibrée, bien que les proportions respectives des pigments ne soient pas identiques. Le rendement quantique de la photosynthèse doit alors avoir des minimums dans les régions, où un des systèmes absorbe la lumière plus intensément que l'autre. On observe effectivement la structure fine correspondante du spectre d'action.

L'étude des spectres d'absorption différentiels a fourni une riche information sur les deux systèmes photochimiques. L'étude des spectres différentiels est effectuée dans les conditions d'absorption

simultanée de la lumière excitant la photosynthèse. Le faisceau d'excitation est perpendiculaire au faisceau analytique. On examine les variations dans l'absorption différentielle d'une lumière faible en présence d'un éclairage monochromatique intense (qui peut être, notamment, discontinu) et dans l'obscurité. En faisant varier la longueur d'onde de la lumière excitatrice, on arrive à obtenir le spectre d'action et à déterminer les pigments sensibilisant les variations de l'absorption. Cette méthode a été élaborée par Duysens (1956) et la technique impulsionnelle par Kock (1963) et Witt (1959). La méthode impulsionnelle permet de mesurer les temps de vie des composés intermédiaires et les temps de leur apparition et de leur disparition dans l'intervalle compris entre 10^{-1} et 10^{-8} s.

Ces techniques ont permis de mettre en évidence l'intervention, dans la photosynthèse, d'un caroténoïde qui passe, sous l'action de l'éclairage, dans une forme métastable. Quand l'éclairage est excédentaire, l'énergie se dissipe à travers cette forme. Les caroténoïdes protègent la chlorophylle contre la photooxydation en présence d'un excès de lumière. La photooxydation de Chl a_I (Chl a dans le SPI) est déterminée par le passage d'un électron de Chl a_I sur le $NADP^+$. On a établi la stœchiométrie 1 : 1 de l'oxydation de la chlorophylle a_I et de la réduction du $NADP^+$. C'est l'eau qui est le donneur final d'électron pour la chlorophylle a_I.

La lumière à $\lambda < 700$ nm provoque des changements réversibles dans l'absorption de Chl a_I. L'oxydation est suivie de la réduction qui dure 20 ms. Dans la région de 700 à 730 nm l'oxydation de Chla_I est irréversible. Dans le SPII le pigment n'est excité qu'à $\lambda <$ < 700 nm. C'est, probablement, également de la chlorophylle a (Chl a_{II}). La différence entre les deux chlorophylles est déterminée par leurs entourages différents. La durée de vie de Chl a_{II} est inférieure de deux ordres de grandeur à celle de Chl a_I. Le tableau 14.1 donne les propriétés de ces deux chlorophylles.

Tableau 14.1

Propriétés des chlorophylles I et II (Witt)

Propriétés	Chl a_I	Chl a_{II}
Type de réaction	Donneur d'électron	Sensibilisateur (?)
Bandes d'absorption, nm	438, 660, 682 à 703	435, 640, 682
Temps d'apparition, ns	$\leqslant 20$	$\leqslant 20$
Durée de vie (20 °C), ms	20	0,2
Domaine d'excitation	< 730	< 700
Température d'inactivation, °C	65	55

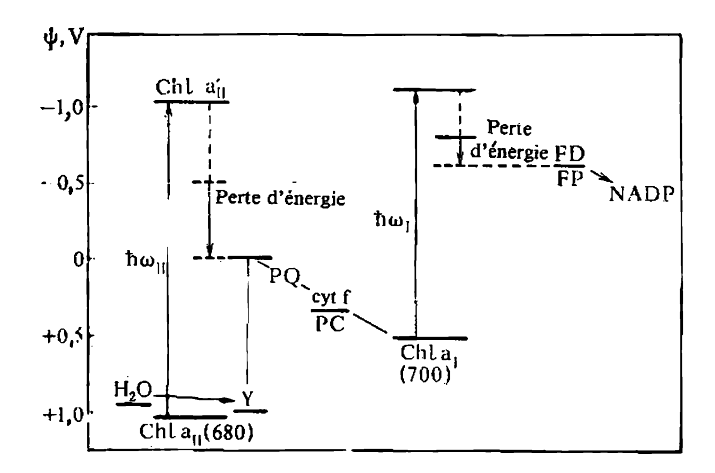


Fig. 14.8. Schéma énergétique des événements dans le SPI et le SPII :
PC — plastocyanine, PQ — plastoquinone, FD — ferredoxine, FP — flavoprotéine

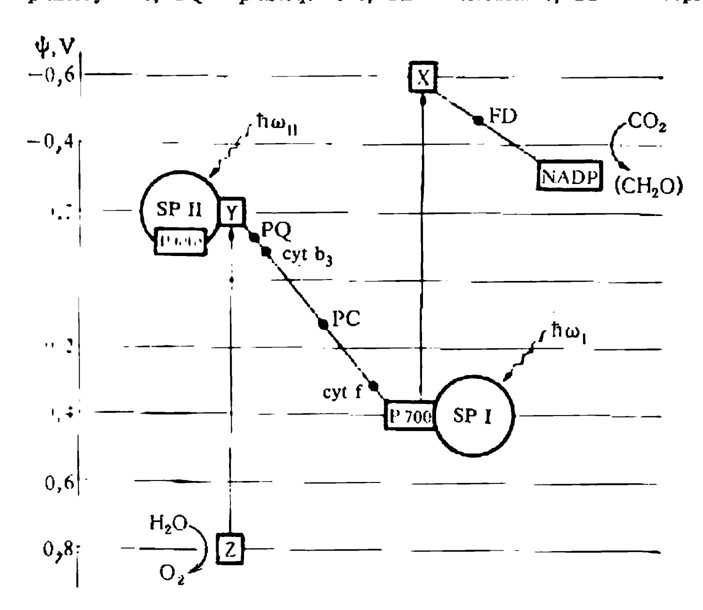


Fig. 14.9. Schéma de la photosynthèse :
Z et Y sont les donneurs et accepteurs primaires d'électrons de la photoréaction II, P700 et X les donneurs et accepteurs primaires de la réaction I, P690 le centre réactionnel de SPII, P700 le centre réactionnel de SPI, PQ la plastoquinone, PC la plastocyanine, FD la ferredoxyne. En ordonnées, les potentiels redox en volts

La liaison entre le SPI et le SPII est assurée au moyen des *plastoquinones* (PQ) participant aux réactions d'oxydoréduction. La chlorophylle a^*_{II} excitée réduit la PQ en hydroquinone, Chl a^*_I l'oxyde de nouveau. Les PQ sont disposées en « pool » (près de cinq molécules) entre les deux systèmes photochimiques. Les cytochromes (avant tout le cytochrome *f*) occupent également une position intermédiaire entre le SPI et le SPII. On trouvera sur la figure 14.8 le diagramme énergétique des événements dans le SPI et le SPII et sur la figure 14.9 le schéma général de la photosynthèse.

L'étude de la fluorescence donne des renseignements précieux sur les deux systèmes photochimiques. Le rendement quantique de la fluorescence de Chl *a* (v. p. 473) vaut 30 % *in vitro* et seulement 3 à 6 % *in vivo*. Dans le second cas on voit fluorescer plusieurs formes de Chl *a*, différant par leurs spectres d'émission et leurs rendements quantiques. Le faible rendement quantique observé *in vivo* est dû au fait que l'énergie est consommée par la photosynthèse.

Le composé intermédiaire réduit XH et le composé intermédiaire oxydé Z (v. fig. 14.1) sont les produits principaux de deux réactions photochimiques primaires. La substance Z oxyde H_2O en O_2, XH réduit CO_2. Ce sont des processus enzymatiques. Le système d'enzymes responsable de la libération de O_2 renferme du manganèse. L'ion Mn^{2+} intervient dans la réaction photocatalysée par le SPII. La réaction possible de l'ion Mn^{2+} photooxydé serait la suivante:

$$2Mn^{3+} + H_2O \rightarrow {}^1/_2O_2 + 2Mn^{2+} + 2H^+,$$

ce qui demande une énergie supérieure à +0,75 eV.

La substance Z serait un enzyme à cofacteur Mn^{3+}. On a supposé que X était le $NADP^+$ (le couple $NADP^+$/NADPH a le potentiel valant —0,35 V). En réalité, il existe au moins deux précurseurs: la ferroprotéine ferredoxine (FD) et l'enzyme ferredoxyne-NADP-réductase. Les chloroplastes éclairés réduisent le pigment jusqu'en —0,60 V. Le potentiel de X serait proche de cette valeur. Le schéma des réactions possibles est le suivant:

$$\underset{-0{,}6\text{ V}}{\frac{\text{X}}{\text{XH}}} \rightarrow \underset{-0{,}4\text{ V}}{\frac{\text{FD}}{\text{FD réduite}}} \xrightarrow{\text{FD-NADP-réductase}} \underset{-0{,}35\text{ V}}{\frac{\text{NADP}^+}{\text{NADPH}}}$$

On connaît mieux le chemin menant de CO_2 au glucide, grâce aux travaux de Calvin et col. qui ont utilisé le marqueur radioactif ^{14}C. L'équation décrivant la fixation de CO_2 est de la forme

$$6RDP + 6CO_2 + 18ATP + 12NADPH \rightarrow 6RDP + HP + 18ADP + 17P_i + 12NADP.$$

Ici RDP est le ribulose-1,5-diphosphate

```
      O         O  OH OH         O
      ||     H  ||  |  |  H      ||
HO—P—O—C—C—C—C—C—O—P—OH
      |      H      H  H  H      |
      OH                         OH
```

et HP est l'hexose phosphate. RDP est l'accepteur primaire de CO_2. Le chemin qui mène le carbone à la photosynthèse — une séquence de réactions obscures — est décrit par le *cycle de Calvin* qui comporte 13 étapes. La réaction globale est donnée ci-dessus. En notation abrégée, on a

$$6C_5+6C_1 \rightarrow 6C_5+C_6,$$

les indices montrant le nombre de carbones dans la molécule. Un schéma simplifié du cycle de Calvin est représenté sur la figure 14.10

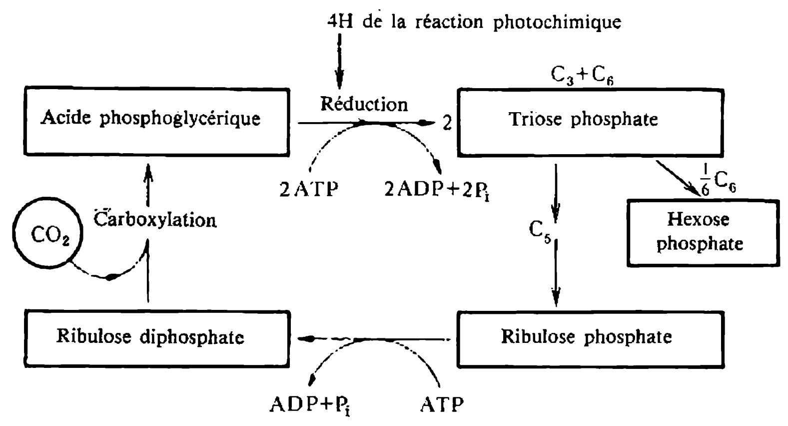


Fig. 14.10. Schéma simplifié du cycle de **Calvin**

L'hexose phosphate formé est hydrolysé avec l'élimination du phosphate. La formation d'une molécule d'hexose à partir de 6 molécules de CO_2 consomme l'énergie de 18 molécules d'ATP. Ces molécules se forment par transfert d'électrons au cours de la photosynthèse (phosphorylation de l'ADP). La réaction globale s'écrit

$$\text{NaDP}+n'\text{ADP}+n'\text{P}_1+n\hbar\omega \rightarrow \text{NaDPH}+n'\text{ATP}+\text{O}_2+(n'-2)\text{H}_2\text{O}.$$

Cette réaction se réalise dans le système complet avec intervention des systèmes de pigments et de la chaîne de transfert d'électrons.

§ 14.3. Chloroplastes

La photosynthèse a pour siège les organites des cellules végétales dits chloroplastes. On peut voir sur la figure 14.11 une microphotographie électronique de la coupe d'un chloroplaste de la feuille de maïs. Le chloroplaste a 3 à 10 μm de diamètre, 1,5 à 3 μm d'épaisseur. La cellule d'une algue verte en est remplie presque complètement. Sur la figure 14.11 on peut voir les *lamelles* quasi parallèles, plongées dans le stroma plus clair. Chez les plantes supérieures les lamelles forment des empilements qu'on appelle *grana*. Les lamelles sont

les sections des petits sacs fermés et aplatis, dits *thylacoïdes* et ayant un diamètre d'environ 500 nm. Un chloroplaste en contient près de 1000. La figure 14.12 montre un modèle de la structure du chloroplaste. Les processus de photosynthèse sont localisés dans les mem-

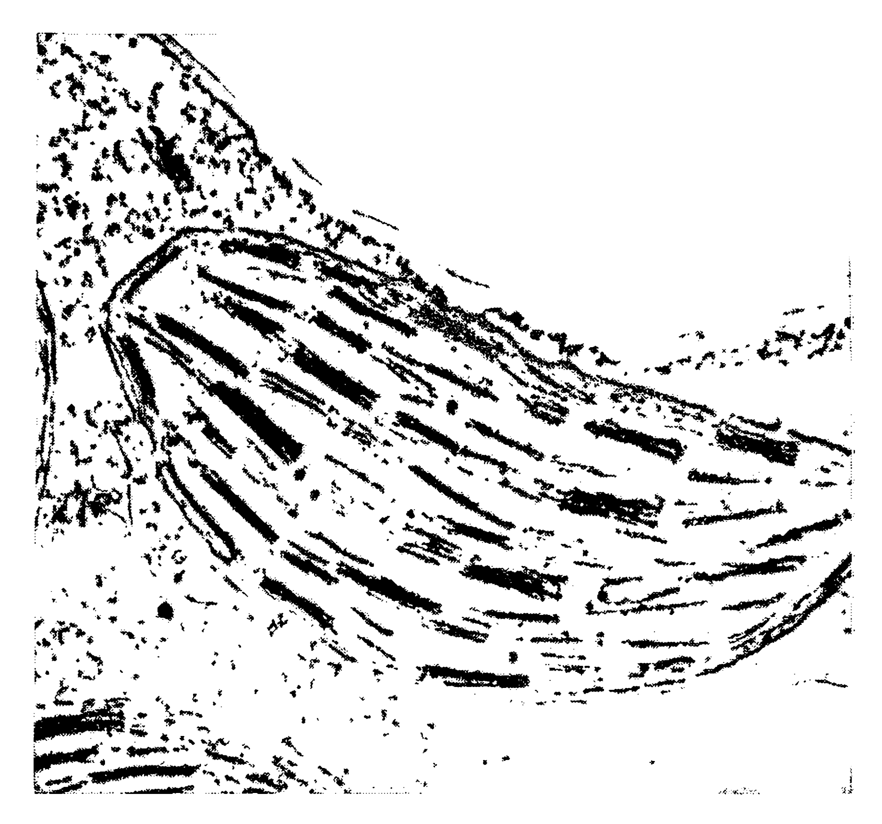


Fig. 14.11. Coupe d'un chloroplaste vue au microscope électronique

branes des thylacoïdes abritant des pigments actifs, avant tout la chlorophylle. Les fragments des thylacoïdes réalisent la réaction de Hill et la photophosphorylation.

L'étude des thylacoïdes par microscopie électronique révèle qu'ils contiennent des systèmes cristalloïdes réguliers de granules assemblés de façon compacte. Les dimensions du granule des thylacoïdes de l'épinard sont de $18{,}5 \times 15{,}5 \times 10$ nm^3. Sa masse moléculaire est évaluée à $2 \cdot 10^6$. Connaissant la composition des lamelles, on peut déterminer le nombre de molécules de substances différentes

présentes dans le granule. Les données correspondantes figurent dans le tableau 14.2.

Le nombre de molécules de chlorophylle, égal à 230, est en accord avec l'évaluation indépendante pour l'unité photosynthétique (v. p. 468).

Les granules seraient constitués par des sous-unités organisées. Il est établi que les chloroplastes comportent des particules de deux

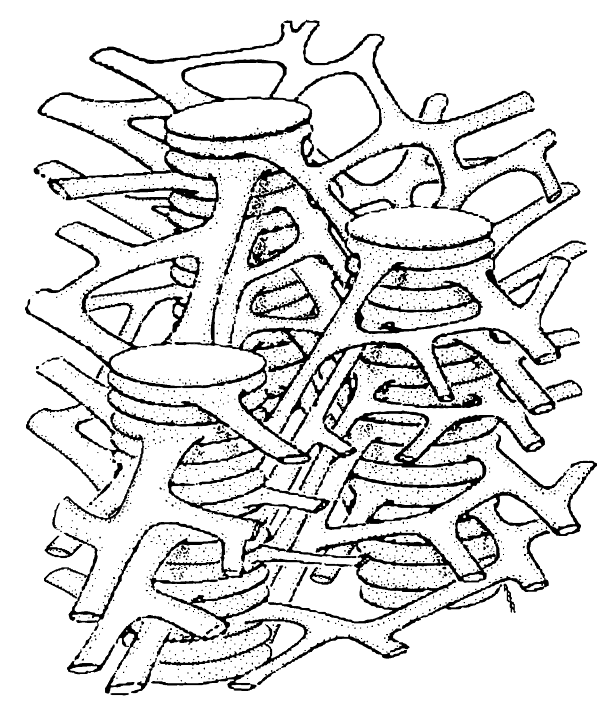


Fig. 14.12. Modèle de la structure du chloroplaste

sortes: légères de diamètre de 7 à 11 nm et lourdes de diamètre de 15 à 18 nm. Les particules légères renferment une proportion plus élevée de Chl *a*, elles sont susceptibles de la phosphorylation cyclique et de la réduction du $NADP^+$ en présence d'ascorbate. Les particules lourdes sont plus riches en Chl *b*, elles réduisent à la lumière le ferricyanure (réaction de Hill) et assurent la phosphorylation non cyclique. Les particules légères sont identifiées au système SPI et les lourdes au système SPII. Un micromètre carré de la surface du thylacoïde contient près de 4000 particules légères et près de 2000 particules lourdes. Or, comme nous l'avons vu, le nombre de SPI et de SPII doit être à peu près le même. Il s'ensuit que chaque particule lourde renferme deux SPII.

Tableau 14.2

Composition du granule du thylacoïde d'épinard

Fraction lipidique (nombre de molécules)	M. M.	Fraction protéique	M. M.
230 chlorophylles	206 400	Protéines	928 000
48 caroténoïdes	27 400	2 atomes Mn	110
48 quinones	31 800	12 atomes Fe	672
116 phospholipides	90 800	6 atomes Cu	218
144 digalactosyldiglycérides	134 000		
366 monogalactosyldiglycérides	268 000		
48 sulfolipides	41 000		
Stéroïdes	15 000		
Lipides non identifiés	175 000		
Total	989 400	Total	929 000

Dans les chloroplastes en activité on observe des variations lentes de l'absorption à 475 et à 515 nm, qui durent quelques secondes. Dans les mêmes domaines spectraux on voit se produire des variations rapides de l'absorption avec le temps d'apparition des bandes inférieur à 10^{-5} s et le temps de disparition de 20 ms. Ces variations rapides indiquent des réactions d'oxydoréduction parallèles à la phosphorylation. Elles reflètent les variations du champ électrique en travers de la membrane, leur disparition est liée au transport de protons et d'autres ions. En effet, lorsque la perméabilité ionique de la membrane augmente par suite d'un choc osmotique, les variations disparaissent plus vite. Cela se produit également lors de l'action des découpleurs de la phosphorylation qui améliorent la perméabilité aux protons, ainsi que sous l'action des ionophores (la gramicidine D).

On a effectué des expériences où des couches de Chl a, de Chl b et de caroténoïdes portées sur des plaques de verre étaient soumises à l'action des champs électriques d'une intensité allant jusqu'à 10^6 V/cm. On mesurait les variations de l'absorption. Ces variations coïncidaient avec celles dans les chloroplastes, induites par la lumière. La variation de l'absorption $\Delta A = \Delta I/I$ dépend linéairement de celle du potentiel $\Delta\psi$:

$$\Delta\psi = q/C = b\Delta A. \tag{14.3}$$

Ici q est la charge ayant traversé la membrane, $C \approx 1$ µF sa capacité, $b \approx 50$ mV/ΔA. Le courant est égal à

$$i = C\frac{d\Delta\psi}{dt} = Cb\frac{d\Delta A}{dt}. \tag{14.4}$$

Lors de l'impulsion lumineuse provoquant une révolution, la membrane est traversée par deux charges élémentaires par chaîne électronique. Dans ce cas $\Delta\psi \approx 50$ mV; dans le cas des impulsions prolongées $\Delta\psi_{max} \approx 200$ mV; dans celui de l'éclairage continu $\Delta\psi \approx \approx 100$ mV. Le champ est créé à moitié par la réaction dans le SPI et à moitié par celle dans le SPII.

La photosynthèse est également accompagnée par des variations du pH. Le pH augmente, lorsque l'intensité du champ électrique diminue. Le rapport du nombre de protons absorbés à celui d'électrons transportés est égal à 2. Ces résultats s'accordent qualitativement avec la théorie chimiosmotique de Mitchell (v. § 13.3), selon laquelle le transfert d'électrons fournit l'énergie libre pour la phosphorylation sous la forme de gradients de ψ et du pH.

L'impulsion lumineuse étant courte, $\Delta\psi \approx 50$ mV, mais le pH est alors de loin inférieur à l'unité. Dans ces conditions la photosynthèse se déroule sans subir l'effet de ΔpH. Il a été démontré que lors d'une impulsion isolée la phosphorylation se produit, effectivement, aux dépens de $\Delta\psi$, le rendement en ATP étant de 0,30 par impulsion, indépendamment de l'intervalle entre les impulsions. La phosphorylation est bloquée par la gramicidine D. Pour $\Delta\psi > > 50$ mV, la quantité de l'ATP qui se forme est proportionnelle à $\Delta\psi$. L'énergie électrique est utilisée pour produire l'ATP.

§ 14.4. Mécanisme de la photosynthèse

La figure 14.13 représente le schéma général du couplage de divers processus dans la membrane thylacoïde lors de la photosynthèse (Witt, 1971).

On a numéroté les événements suivants:

1. Migration et dissipation d'énergie. L'énergie est accumulée, puis dissipée dans le caroténoïde excité Car *, ainsi que par suite de la fluorescence.

2. Photoréactions dans le SPI et le SPII.

3. Formation du champ électrique par suite du transfert orienté d'électrons perpendiculairement à la membrane défini par l'orientation anisotrope de ses molécules.

4. Transfert d'électrons et entrée de protons dans la membrane, en conformité avec la théorie de Mitchell: deux électrons de la face externe de la membrane sont remplacés par deux ions OH^- et deux trous (+) sur la face interne par deux protons. Le mécanisme consiste, probablement, en réactions protéolytiques avec le transfert d'électron de H_2O sur $NADP^+$.

5. Formation de ΔpH. OH^- et H^+ liés peuvent être remplacés par Cl^- et K^+. OH^- et H^+ diffusent respectivement dans les phases externe et interne, ce qui crée ΔpH.

6. Sortie de H^+ contrôlée par le champ et diminution de ΔpH.

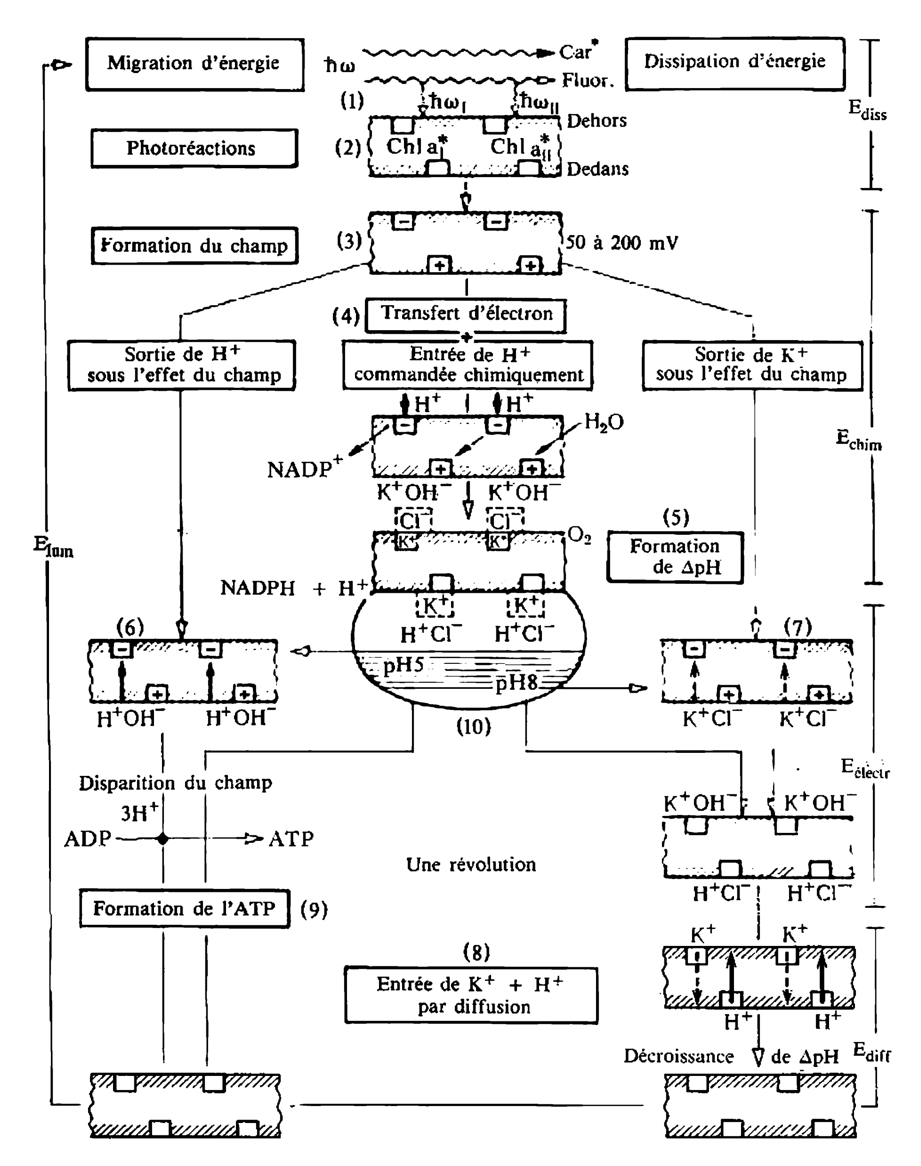


Fig. 14.13. Schéma du couplage des processus moléculaires dans la photosynthèse selon Witt

7. Sortie de K^+ contrôlée par le champ.

8. Décroissement de ΔpH par diffusion.

9. Phosphorylation couplée à la décharge de la membrane électriquement énergisée, conformément à la théorie de Mitchell.

10. Régulation de la valeur interne du pH^i. Lorsque $pH^i \approx 8$, la conductance potassique de la membrane devient supérieure à sa conductance protonique. Lors de la génération de H^+ (processus 4), l'augmentation de $[H^+]^i$ freine le flux d'électrons, ce qui, à son tour, ralentit la génération de H^+. Quand $[H^+]^i$ augmente, la sortie de H^+ croît grâce à la sortie de K^+. La concentration $[H^+]^i$ est maintenue à un niveau déterminé. Elle augmente avec la fréquence des impulsions ou l'intensité de la lumière. Les processus 6 et 9 s'accélèrent alors à leur tour.

Ainsi, l'énergie des quanta de lumière sert à charger la membrane. La partie droite de la figure 14.13 montre, comment cette énergie est utilisée.

La photosynthèse est un ensemble complexe de processus photo et électrochimiques, dont les mécanismes précis demeurent encore souvent non établis. Le schéma de Witt n'a encore qu'un caractère hypothétique. Dès qu'on passe aux estimations quantitatives, il devient difficile d'appliquer la théorie de Mitchell à la photosynthèse. Dans le cadre de cette théorie l'énergie libre des protons doit surpasser l'énergie de phosphorylation:

$$n_H G_H \geqslant G_p. \tag{14.5}$$

Ici $G_p \approx 0,5$ eV = 48,3 kJ/mol, n_H est le nombre de protons déplacés. Dans les conditions ordinaires, à $\Delta\psi \approx 50$ mV et $\Delta pH \approx 2$ à 2,5,

$$G_H = e\Delta\psi + kT \cdot 2,3\Delta pH \approx 0,18 \text{ eV}. \tag{14.6}$$

n_H ne peut donc être inférieur à 3. L'expérience fournit une estimation voisine: la synthèse d'une mole d'ATP nécessite 4 protons. D'autre part, il découle du rapport $ATP/2e^- = 2$ et $H^+/e^- = 2$ qu'il y a deux protons consommés par mole d'ATP. Leur énergie (0,36 eV) ne suffit pas pour synthétiser l'ATP et l'inégalité (14.5) n'est pas respectée: l'énergie d'un proton est insuffisante. Cette disparité est encore plus frappante dans les conditions d'un éclairage discontinu. L'application de la théorie de Mitchell à la phosphorylation photosynthétique suscite une étude plus approfondie.

Examinons pour conclure les processus élémentaires qui déterminent la photosynthèse. On doit leur classification à Borissov (1973). Nous allons considérer quatre classes suivantes de phénomènes.

a) Absorption de la lumière par la chlorophylle et les pigments auxiliaires.

b) Migration de l'énergie des molécules absorbant la lumière vers les centres réactionnels.

c) Séparation primaire des charges de noms contraires.

d) Stabilisation des nouveaux porteurs d'énergie pour le couplage avec les étapes chimiques ultérieures.

Le premier groupe de phénomènes est bien étudié et décrit plus haut. Penchons-nous sur le groupe b. Il est établi que la migration existe réellement et qu'elle se produit par résonance. D'autres mécanismes de migration sont possibles en principe. Dans le cas du mécanisme semi-conducteur l'excitation de la molécule par la lumière fait passer l'électron dans la bande de conduction, après quoi la paire de charges contraires (électron et trou) qui vient de se former se déplace dans un système moléculaire ordonné (dans le cristal moléculaire). Mais, dans les chloroplastes, un ordre strict n'existe qu'au niveau de petits ensembles de molécules de chlorophylle. Le mécanisme semi-conducteur est donc peu probable. En même temps, l'ordre moléculaire dans les chloroplastes suffit pour que l'énergie puisse migrer selon d'autres mécanismes. Il peut y avoir migration de l'énergie des états excités triplets ou bien une migration par résonance du type excitonique ou du type inductif. Dans les deux derniers cas l'interaction dipôle-dipôle a pour résultat le transfert de l'énergie de l'état excité singulet sur une molécule non excitée. Dans la migration excitonique la durée de ce transfert est comparable aux périodes des vibrations : 10^{-12} à 10^{-15} s, pour une distance de 1,5 à 1,8 nm. C'est le mécanisme le plus rapide. La migration du type inductif est précédée par l'installation de l'équilibre thermique entre la molécule excitée et le milieu ; dans ce cas la vitesse de migration dépend fortement de la température. Une série de faits témoignent en faveur du mécanisme excitonique rapide.

Les stades physiques primaires de la photosynthèse, depuis l'absorption du quantum jusqu'à sa capture dans le centre réactionnel, durent un temps ne dépassant pas ~ 100 ns. Cette quantité est inférieure de 1,5 ou 2 ordres de grandeur aux temps caractéristiques de la fluorescence des molécules des colorants : c'est la durée limite pour le déroulement des réactions limitées par la diffusion. Cette migration rapide de l'énergie assure un rendement quantique élevé (plus de 90 %) du processus de photosynthèse primaire.

On n'a pas encore su déterminer la nature des maillons de la chaîne de transfert d'électrons (CTE). Divers schémas de la CTE ont été proposés. On a établi une particularité importante de la CTE : à basses températures la vitesse de transfert d'électrons ne dépend pas de la température. Cela a conduit à la conclusion évidente sur le mécanisme tunnel du transfert d'électrons entre porteurs voisins. Cette conception a été développée dans les travaux de Blumenfeld et Tchernavski (v. § 13.4).

Le transfert d'électrons se fait entre les centres fixés dans la membrane du thylacoïde. On peut considérer ces centres comme des pièges électroniques assez profonds. Il est possible de représenter un

centre par un puits de potentiel et d'examiner les niveaux occupés par l'électron déplacé. Il s'agit de résoudre le problème du transfert d'électron entre deux maillons voisins de la chaîne, i.e. entre les niveaux fondamentaux des puits de potentiel, séparés par une barrière (§ 13.4). Le système photosynthétique présente alors des interactions électrono-conformationnelles qu'il convient de traiter à l'aide du modèle de puits de potentiel (v. § 6.6). Après le transfert d'électron la molécule de l'accepteur prend une conformation hors d'équilibre relaxant lentement vers l'équilibre. Cela rend possibles une résonance équilibrée et un effet tunnel. Mais aucune théorie quantitative stricte de ces phénomènes n'existe encore.

§ 14.5. Vision

A côté de la photosynthèse, un processus photobiologique extrêmement important est celui de photoréception qui consiste à recevoir l'information sur les facteurs du milieu extérieur par l'intermédiaire de la radiation lumineuse. Nous allons considérer la forme la plus parfaite de la photoréception : la vision des vertébrés.

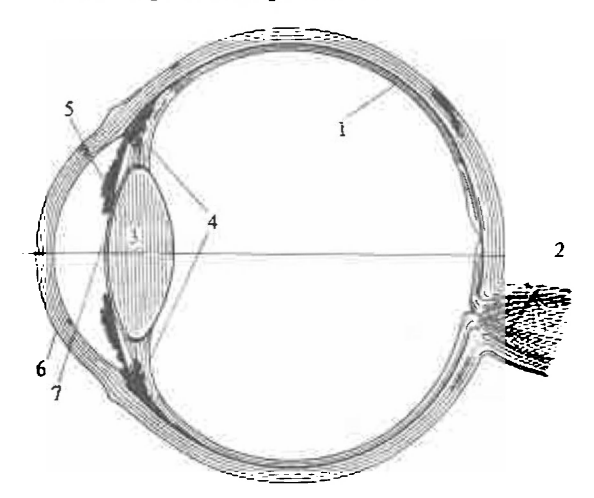


Fig. 14.14. Œil d'un vertébré:
1 — rétine, *2* — nerf optique, *3* — cristallin, *4* — muscle ciliaire, *5* — iris, *6* — cornée, *7* — pupille

L'organisation de l'œil est schématisée sur la figure 14.14.

L'œil est un système autorégulable. Ses défauts optiques sont compensés, dans une large mesure, par les mécanismes de régulation optimisant le fonctionnement de l'œil. Les plus importants en sont la focalisation de l'image sur la rétine et la régulation de la quantité de la lumière parvenant vers la rétine.

La focalisation de l'image sur la rétine se fait par variation automatique du rayon de courbure du cristallin (par accommodation). C'est le muscle ciliaire enveloppant le cristallin qui assure l'accommodation. Sa contraction ou son relâchement se produisent en réponse à une défocalisation de l'image. Le système d'accommodation est un système d'asservissement : il maintient la netteté de l'image d'un objet qui s'éloigne ou se rapproche.

Pour optimiser le fonctionnement de l'œil, il est nécessaire de réguler la quantité de lumière entrant par la pupille. Cette régulation se fait au niveau de l'ouverture de la pupille. La pupille se rétrécit quand la lumière est intense et se dilate, quand elle est faible. Cet effet est dû à deux muscles antagonistes formant l'iris.

L'interprétation phénoménologique d'un tel système part des principes fondamentaux de la *théorie de la commande*. Le système reçoit un *signal d'entrée* qui diffère du signal attendu, de la « valeur de consigne ». La différence entre le signal d'entrée et la valeur de consigne est ce qu'on appelle *signal d'erreur*. La destination du régulateur consiste à fournir le *signal de sortie* approprié. Le système de régulation comporte le régulateur et l'objet commandé, ainsi qu'un circuit de rétroaction.

Examinons la structure de la *rétine*. Elle comporte plusieurs couches, comme le montre le schéma de la figure 14.15. Les couches de cellules sont énumérées dans la légende. L'image se forme sur l'épithélium pigmentaire *1*. La couche *3* assure la liaison synaptique des cellules photoréceptrices *2* avec les cellules nerveuses horizontales *4*. D'autres cellules nerveuses — bipolaires *5* et amacrines *6* — sont synaptiquement liées dans la couche *7* avec les cellules ganglionnaires *8* qui sont les sources directes des influx introduits dans les axones du nerf optique. Le signal d'entrée est l'image optique sur l'épithélium pigmentaire, celui de sortie est l'image neurale codée par les influx dans le nerf optique. Avant de parvenir jusqu'au photorécepteur, la lumière a à franchir les couches de cellules nerveuses : cela assure la protection des cellules photoréceptrices contre les effets nuisibles.

Les *bâtonnets*, comme les *cônes*, sont des structures allongées constituées de plusieurs compartiments spécialisés formant une séquence de disques parallèles. Le bâtonnet et le cône de la grenouille sont schématisés sur la figure 14.16. Les disques renferment les dispositifs moléculaires de photoréception ; les disques sont alimentés en substances nécessaires depuis le corps principal de la cellule par l'intermédiaire des flagelles. La lumière est absorbée dans les disques par un système moléculaire, dont la description sera donnée au paragraphe suivant. Il a été démontré que les protéines des disques sont constamment renouvelées.

Il est établi que les cônes répondent de la vision des couleurs, alors que les bâtonnets perçoivent un éclairage faible. Encore Lomo

nossov parlait de la perception visuelle de trois couleurs — trois variétés de corpuscules de l'éther — rouges, jaunes et bleus (« Le Dit de l'origine de la lumière », 1756). La théorie de la vision colorée de Young (1802) se fondait sur l'hypothèse de l'existence de trois sortes

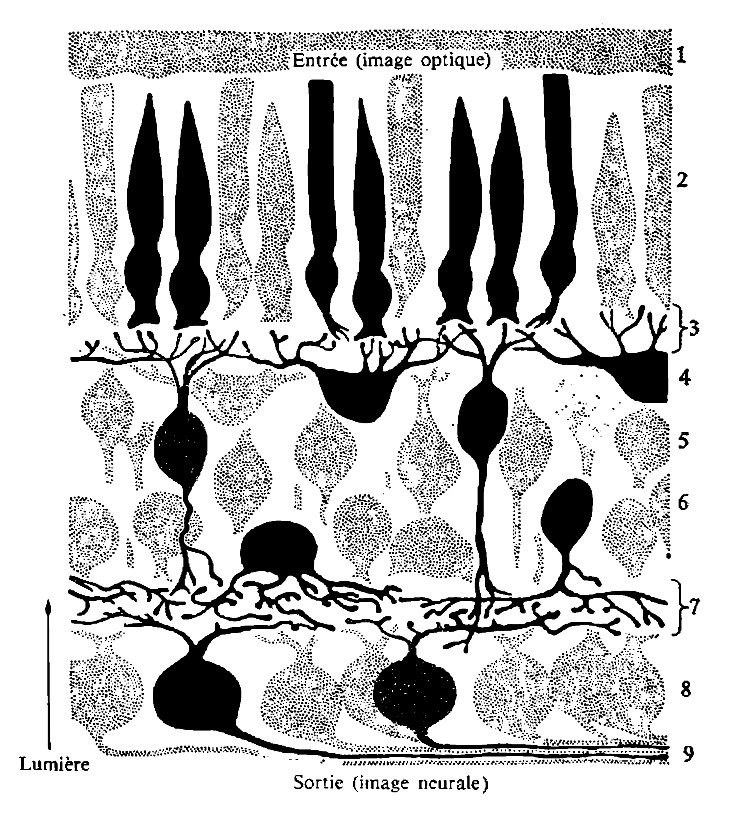


Fig. 14.15. Structure de la rétine:
1 — épithélium pigmentaire, 2 — cellules réceptrices (bâtonnets et cônes), 3 — couche synaptique externe, 4 — cellules horizontales, 5 — cellules bipolaires, 6 — cellules amacrines, 7 — couche synaptique interne, 8 — cellules ganglionnaires, 9 — fibres du nerf optique

de substances photosensibles dans la rétine. Cette théorie de la vision à trois couleurs fut ensuite développée par Maxwell et Helmholtz. Les mesures directes de l'absorption de la lumière par des cônes isolés ont corroboré cette théorie. Il existe trois variétés de cônes, caractérisées par trois courbes différentes de l'absorption de la lumière par les pigments visuels. La figure 14.17 représente ces courbes pour les primates. Les courbes caractéristiques de l'homme en sont très proches.

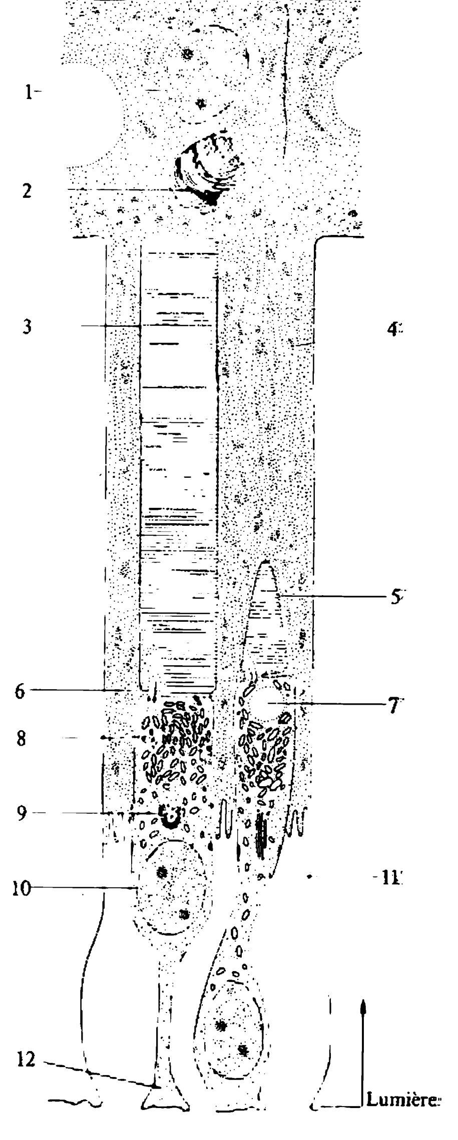


Fig. 14.16. Structure du bâtonnet (à gauche) et du cône (à droite) de la grenouille :

1 — noyau de la cellule d'épithélium pigmentaire, *2* — fragment qui s'est détaché du segment externe du bâtonnet, *3* — segment externe du bâtonnet, *4* — granules de pigments, *5* — segment externe du cône, *6* — flagelles conjonctifs, *7* — goutte de graisse, *8* — mitochondries, *9* — complexe de Golgi, *10* — noyau, *11* — ribosome, *12* — corps synaptique

Les récepteurs des invertébrés sont organisés autrement, dans de nombreux cas ils sont sensibles dans un large domaine spectral.

Les mécanismes assurant la transformation de l'image optique sur la rétine dans l'image neurale communiquée à l'encéphale, sont très complexes. La rétine assure l'adaptation aux différences d'intensité et de composition spectrale de la lumière, la perception de l'image à trois dimensions et du mouvement de l'objet observé. On a étudié les influx apparaissant dans les nerfs optiques du crabe et des vertébrés. L'œil du crabe contient une multitude de récepteurs ressemblant aux bâtonnets et appelés *ommatidies*. On a pu étudier les influx créés par des ommatidies isolées dans les axones isolés correspondants. Dans l'obscurité seuls se propagent des influx périodiques rares. Lors de l'éclairage à l'intensité de seuil des impulsions supplémentaires apparaissent. Quand l'intensité est de loin supérieure à la valeur de seuil, l'éclairage provoque tout d'abord une séquence courte d'impulsions de fréquence élevée. Puis leur fréquence diminue, mais elle demeure quand même sensiblement plus importante que dans

l'obscurité. Une fois la lumière éteinte, on voit apparaître un nouveau paquet d'impulsions fréquentes, dont la fréquence diminue progressivement jusqu'au niveau caractéristique de l'obscurité. Les axones des vertébrés réagissent plus intensément aux variations de l'éclairage qu'à un éclairage continu. Les influx sont inhibés, si l'éclairage est trop intense. La rétine a pour fonction une interaction nerveuse complexe d'intégration, une sorte de travail de calcul. Dans ce sens la rétine ressemble à un ordinateur.

Les cellules horizontales et amacrines joignent les photorécepteurs voisins en assurant la transmission de l'information dans le sens

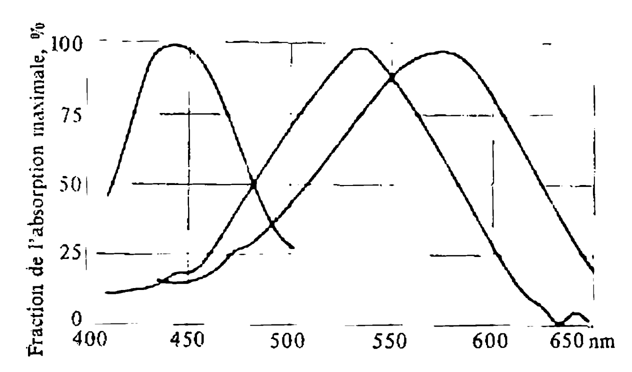


Fig. 14.17. Courbes de sensibilité spectrale des cônes des primates avec les maximums à λ 447 (bleu-violet), à 540 (vert) et à 577 nm (jaune)

latéral; les cellules bipolaires transmettent l'information à la couche synaptique interne. Comme le montre l'étude de l'activité électrique des cellules isolées, les cellules réceptrices et horizontales (ainsi que, dans certains cas, les cellules bipolaires) subissent, dans les conditions de l'éclairage, une hyperpolarisation progressive sans engendrer d'influx nerveux. En d'autres termes, leur potentiel membranaire devient plus négatif. C'est un comportement inhabituel pour le neurone. En règle générale, l'excitation dépolarise les neurones qui acquièrent alors un potentiel membranaire positif. Les influx se propagent ordinairement le long des cellules nerveuses. Or, ces événements ne se produisent pas dans les types mentionnés des cellules nerveuses de la rétine. Par contre, des influx nerveux positifs apparaissent dans les cellules amacrines et ganglionnaires. Ce sont ces dernières qui produisent les influx à destination de l'encéphale.

Chez les invertébrés (calmar) les bâtonnets se comportent autrement: ils sont dépolarisés par l'éclairage, ressemblant dans ce sens aux neurones ordinaires soumis à l'excitation.

Le seuil de sensibilité de l'œil est très élevé. Après une adaptation prolongée à l'obscurité l'œil humain est capable de percevoir

des quanta séparés: il est supérieur sous ce rapport à toute cellule photosensible. Par suite de l'indépendance des actes de radiation des molécules et des atomes séparés, l'œil s'avère capable d'observer les *fluctuations quantiques* de la radiation, lorsque la source lumineuse est suffisamment faible. Cela a été démontré en premier par Barnes et Cherny en 1932.

En 1933 Vavilov et col. réalisent une étude visuelle précise des fluctuations quantiques à l'aide d'une technique très fiable. Ils obtiennent des caractéristiques précises de la sensibilité des bâtonnets de l'œil, ainsi que des données importantes sur la nature de la lumière. Plus tard Hecht a effectué ses travaux consacrés au même problème.

§ 14.6. Mécanisme moléculaire de la photoréception

L'homme et les animaux supérieurs perçoivent la lumière d'intensité ordinaire entre, approximativement, 400 et 760 nm. L'ultraviolet est absorbé par les tissus transparents de l'œil. Les rayons infrarouges ne sont pas perçus par la rétine: s'il en était autrement, les animaux à sang chaud auraient un fond intense de radiation infrarouge qui empêcherait la réception des signaux porteurs d'information. Le pigment ou les pigments des cellules photoréceptrices doivent donc absorber la lumière dans le domaine spectral visible et, par conséquent, être colorés. Comme il s'agit de molécules de composés organiques, il s'ensuit que ces molécules doivent avoir un système assez étendu de liaisons π: lorsque le nombre de liaisons conjuguées est faible, seul l'ultraviolet est absorbé (p. 151).

En effet, en 1933 Wald découvrit la présence de *vitamine A* dans la rétine, plus exactement, dans le *pourpre visuel* ou la *rhodopsine.* La structure de la vitamine A avait été établie un peu plus tôt. La vitamine A (plus précisément, la vitamine A_1) ou le *rétinol*$_1$, a la structure suivante:

```
     CH3        CH3        CH3
      |    H     |    H     |
      C    C     C    C     C       CH2OH
    /1\\ /7\\8 /9\\10/11\\12/13\\14/
H2C2  6C    C    C    C    C
  |    |    H    H    H    H
H2C3  5C(CH3)2
   \4/
    C
    H2
```

La formule brute du rétinol$_1$ est $C_{19}H_{27}CH_2OH$. Cette molécule correspond presque exactement à la demi-molécule de carotène (v. p. 469). Les caroténoïdes sont la source de la vitamine A, dont l'absence conduit à la cécité. On trouve également, dans la rétine des vertébrés, de la vitamine A_2 (*rétinol*$_2$), dont la structure diffère de

celle présentée ci-dessus par la présence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3. Le rétinol$_2$ a pour formule brute $C_{19}H_{25}CH_2OH$. Les rétinols sont des alcools. Dans les photorécepteurs les rétinols se trouvent transformés, par l'alcool-déshydrogénase, en aldéhydes: *rétinal*$_1$ et *rétinal*$_2$; ils y sont, en plus, liés à des phospholipides et des protéines. Dans les rétinals le groupe terminal de la molécule n'est plus $=CH—CH_2OH$, mais $=CH—CH=O$, les formules brutes du rétinal$_1$ et du rétinal$_2$ étant respectivement $C_{19}H_{27}CHO$ et $C_{19}H_{25}CHO$. Les rétinals comportent une liaison π conjuguée de plus que les rétinols.

Les rétinals servent de groupements chromophores dans les pigments visuels contenant des lipoprotéines appelées *opsines*. Les opsines des cônes et des bâtonnets présentent certaines différences, ce qui donne 4 variétés principales du pigment visuel caractérisées dans le tableau 14.3.

Tableau 14.3

Pigments visuels

Processus		Maximum d'absorption, nm
Rétinol$_1$ $\underset{DPNH}{\overset{DPN^+}{\rightleftarrows}}$ Rétinal$_1$ (Alcool-déshydrogénase)	+Opsine des bâtonnets $\rightleftarrows$ $\overset{\text{lumière}}{\rightleftarrows}$ Rhodopsine	500
	+Opsine des cônes $\rightleftarrows$ $\overset{\text{lumière}}{\rightleftarrows}$ Iodopsine	562
Rétinol$_2$ $\underset{DPNH}{\overset{DPN^+}{\rightleftarrows}}$ Rétinal$_2$ (Alcool-désydrogénase)	+Opsine des bâtonnets $\rightleftarrows$ $\overset{\text{lumière}}{\rightleftarrows}$ Porphyropsine	522
	+Opsine des cônes $\rightleftarrows$ $\overset{\text{lumière}}{\rightleftarrows}$ Cyanopsine	620

Une fois la lumière absorbée, le photorécepteur doit présenter une certaine réaction photochimique. Dans la *rhodopsine* le rétinal forme une *base de Schiff* par interaction de son groupe aldéhyde avec un groupe aminé de l'opsine (c'est le groupe ε-NH_2 du lysyle):

$$C_{19}H_{27}CH{=}O + H_2N{-}\text{opsine} \xrightarrow{-H_2O} C_{19}H_{27}CH{=}N{-}\text{opsine}.$$

La rhodopsine de bœuf a la masse moléculaire 40 000. Si l'on admet que sa molécule est sphérique, elle a 4 nm de diamètre. La taille du chromophore n'est que deux fois moins importante.

L'action de la lumière détache le rétinal de la rhodopsine ; des processus analogues ont lieu dans les trois autres cas (v. tableau 14.3). Simultanément, il y a photo-isomérisation du rétinal.

Le complexe opsine-rétinal se forme grâce à la liaison CH=N et à une série d'interactions faibles entre le chromophore et la protéine. Ces interactions sont optimisées par suite de la correspondance de structure qui existe entre le rétinal et l'opsine. Le rétinal peut avoir plusieurs formes isomères, car la double liaison C=C donne lieu à deux conformations, *trans* et *cis*. C'est la conformation *trans* complète, la plus stable, qui a été représentée pour le rétinal à la page 492. Il est établi que le rétinal a la forme 11-*cis* dans son complexe avec l'opsine dans l'obscurité :

Dans cette forme le groupe CH_3 sur l'atome C_{13} et l'hydrogène sur C_{10} sont très rapprochés, ce qui engendre une forte répulsion. Cela rend la molécule quelque peu tordue, la disposition plane des liaisons π y est perturbée. L'énergie de conjugaison s'en trouve diminuée : la forme 11-*cis* doit être moins stable que la forme *trans* complète. Mais, dans le complexe avec l'opsine, la perte en énergie de conjugaison est largement couverte par le gain en énergie d'interaction avec la protéine, la plus élevée pour la forme 11-*cis*.

Quand le pigment se décolore à la lumière, le rétinal se détache de l'opsine et s'isomérise dans la forme *trans* complète la plus stable. Le cycle d'isomérisation *cis-trans* est présent dans tous les systèmes photorécepteurs connus.

Dans le cas de la photoréception il ne s'agit pas d'une réorganisation conformationnelle du rétinal, mais d'une isomérisation *cis-trans* : les rotations se produisent autour de doubles liaisons et non plus autour des liaisons simples. La différence entre la rotamérisation et l'isomérisation *cis-trans* est quantitative. Dans le premier cas la transformation conformationnelle exige que soit franchie une barrière de l'ordre d'une dizaine de kJ/mol (dans l'éthane c'est 12,6 kJ/mol) ; dans le deuxième cas — transformation du 11-*cis-rétinal* en forme *trans* complète — la barrière vaut quelque 105 kJ/mol. Les rétinals isomères demeurent stables en solution.

Les différences entre leurs énergies ne sont pas élevées : à peine 4 à 12 kJ/mol.

La molécule étant excitée par la lumière absorbée, sa couche électronique π subit un réarrangement et la barrière de la rotation interne baisse jusqu'à une valeur comparable à kT. La durée de vie de la molécule dans l'état excité singulet est de 10^{-9} s ; le temps nécessaire pour la rotation s'élève à 10^{-11}-10^{-12} s. Le rendement quantique pour la réaction d'isomérisation 11-*cis* → *trans* complet vaut 0,5 à 0,7.

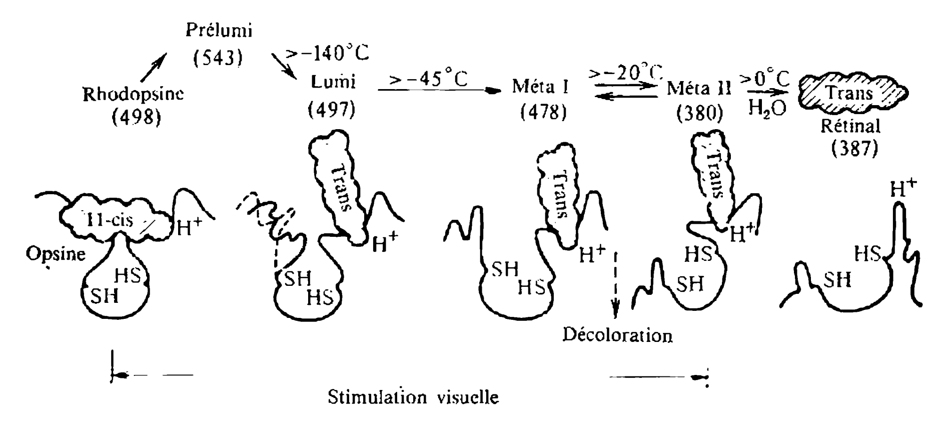


Fig. 14.18. Etapes de la décoloration de la rhodopsine
Le rétinal est hachuré. Entre parenthèses figurent les valeurs de λ_{max} en nm

L'énergie d'un quantum de lumière est plus que suffisante pour l'isomérisation : au quantum à λ = 500 nm correspond une énergie de 210 kJ/mol.

En soumettant une solution de rhodopsine dans le mélange équimolaire de glycérol et d'eau à — 190 °C à l'action d'une lumière à longueurs d'onde différentes, il est possible de déplacer réversiblement l'équilibre des isomères, ce qui s'exprime par des décalages de la bande d'absorption. En partant de ce genre d'études Wald a construit le schéma des transformations successives de la rhodopsine représenté sur la figure 14.18. Sous l'effet de la lumière le rétinal formant complexe avec l'opsine s'isomérise pour donner la prélumirhodopsine. La correspondance de structure entre le rétinal et l'opsine est alors perturbée et cette dernière subit, avec le rétinal lié, une transformation conformationnelle. La structure de l'opsine s'ouvre peu à peu avec apparition d'intermédiaires nommés lumirhodopsine et métarhodopsines. Lors de l'étape finale la base de Schiff s'hydrolyse et le rétinal se détache de l'opsine. Quand l'opsine s'ouvre, de nouveaux groupements chimiques se trouvent exposés,

dont, particulièrement, deux groupes SH et le groupe liant le proton à pK de l'ordre de 6,6 (c'est, probablement, le groupe imidazole).

La photoréception se ramène donc à l'isomérisation du chromophore suivie d'une modification de la structure de la lipoprotéine opsine. La transformation conformationnelle de l'opsine aboutit finalement à l'apparition d'un influx nerveux.

Il a été démontré que la décoloration et la régénération de la rhodopsine *in vitro* dépendent de la fréquence des éclats courts d'un éclairage laser. Seule est absorbée la lumière, dont la polarisation correspond à une orientation déterminée des molécules de rhodopsine, d'où l'intérêt du rapport liant la fréquence des impulsions lumineuses au temps de rotation des molécules de rhodopsine en solution.

Les diverses formes des pigments visuels se caractérisent par des spectres d'absorption différents. Ces différences ne se limitent pas à celles figurant dans le tableau 14.3. La bande d'absorption d'un chromophore dépend pour beaucoup de son interaction avec l'opsine et, par conséquent, de l'état de la lipoprotéine et de ses particularités spécifiques. Ainsi, la rétine de la grenouille contient deux types de bâtonnets, « rouges » et « verts », ainsi que deux types de cônes. Les bâtonnets rouges renferment de la rhodopsine « classique », les verts une rhodopsine, dont la bande d'absorption est décalée vers les ondes courtes. En règle générale, la sensibilité spectrale des pigments visuels présente une corrélation avec la composition spectrale de la lumière dans le milieu ambiant de l'organisme considéré. Quand on passe de l'eau de mer bleuâtre à l'eau douce jaunâtre, on voit, dans les bâtonnets des poissons, la porphyropsine se substituer progressivement à la rhodopsine. Les poissons de mer ont leur maximum de sensibilité aux environs de 505 nm, les poissons d'eau douce aux environs de 540 nm.

Les faits et les hypothèses, dont nous venons de faire un exposé sommaire, posent une série de problèmes qui sont encore loin d'être résolus. La structure de l'opsine et, par là, celle de la rhodopsine, est mal connue. Aujourd'hui, on ne saurait pas construire un modèle détaillé de la rhodopsine et de ses transformations à la lumière. La chimie quantique de ces phénomènes présenterait un grand intérêt.

Il est bien important d'établir une relation entre les événements se produisant dans la rhodopsine et l'apparition des potentiels électriques dans les neurones successifs de la rétine aboutissant à l'envoi d'un influx nerveux vers l'encéphale. On n'en sait à peu près rien.

Nous l'avons déjà dit, les cellules photoréceptrices des vertébrés contiennent des empilements de lamelles ou de disques : membranes qui abritent les pigments visuels. Une cellule renferme un nombre élevé de ces disques, jusqu'à 500-1000. Les membranes com-

portent une bicouche lipidique ordinaire. Les molécules de rhodopsine sont situées sur la face hydrophile interne de la membrane.

Les membranes photoréceptrices des segments externes des bâtonnets de bœuf et de grenouille contiennent près de 60 % de protéine et 40 % de lipide. La rhodopsine est la fraction protéique principale (jusqu'à 80 % de la protéine totale). Les lipides sont essentiellement représentés par des phospholipides: phosphatidyléthanolamine, phosphatidylcholine et phosphatidylsérine. On y trouve 5 à 10 % de glycolipide.

Les disques des segments externes des bâtonnets sont des organelles nageant librement à l'intérieur des cellules, telles les mitochondries. La membrane du disque embrasse un certain espace séparé de l'espace intracellulaire du photorécepteur, dans lequel les disques sont « suspendus ». Cette membrane est imperméable à Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^- et PO_4^{3-}. *In vitro* les disques isolés se gonflent et se compriment en réponse aux variations de la pression osmotique du milieu environnant.

L'éclairage rend la membrane plus perméable: elle retient la matière dissoute moins efficacement que la membrane adaptée à l'obscurité. Le changement conformationnel de la rhodopsine fait changer l'état de la membrane, augmente sa perméabilité passive aux ions Na^+ et K^+.

On a pu constater, par radiographie et par microscopie électronique, des changements de structure qui surviennent dans la membrane du disque sous l'effet de l'éclairage et dont les proportions dépendent du temps d'exposition. Ces changements consistent, au fond, dans une translocation de la rhodopsine. A la lumière la rhodopsine passe de la surface hydrophile interdisques dans la phase hydrophobe interne de la membrane. Les translocations de ce genre ont le caractère des transitions de phase. Des transitions de phase ont été détectées et étudiées par la technique de calorimétrie différentielle dans les membranes des cellules photosensibles de la grenouille et du calmar.

On a examiné, à l'aide de la résonance paramagnétique électronique, une membrane photoréceptrice, dans laquelle on introduisait une sonde de spin. En éclairant la suspension de membranes, on observe des modifications notables des spectres de RPE qui indiquent une augmentation du temps de diffusion de rotation de la sonde dans la membrane (τ). La forme de la courbe qui représente τ en fonction de la durée de l'éclairage témoigne du fait que la photolyse du pigment est associée à un changement de l'état conformationnel de la membrane, à l'augmentation de la microviscosité de ses régions hydrophobes. On peut considérer ces résultats comme une preuve directe des transformations conformationnelles de la membrane soumise à l'éclairage.

L'étude des membranes photoréceptrices par la méthode de

spectroscopie de résonance gamma (effet Mössbauer) fournit des conclusions analogues. On utilisait comme marqueur l'ascorbate de fer enrichi en isotope ^{57}Fe, ^{57}Co servant de source de radiation gamma.

L'activité enzymatique ATP-asique, inhérente à la membrane photoréceptrice, présente un intérêt particulier. Dès les années 30 Engelhardt avait émis l'hypothèse sur l'utilisation de l'énergie de l'ATP dans le processus primaire de la vision. Cette hypothèse a été indirectement corroborée par les résultats obtenus par Venkstern dans l'étude de l'activité ATP-asique de la rétine. On a pu constater plus tard que l'activité ATP-asique est localisée dans les membranes du segment externe des photorécepteurs.

L'ATP-ase est activée par Mg, elle est liée à la rhodopsine. La photolyse du pigment visuel *in vitro* conduit à une inhibition notable de l'ATP-ase, ce qui serait le résultat d'une réorganisation intramoléculaire du pigment subissant une photodénaturation au cours des dernières étapes de la photolyse.

Il est possible que l'activité ATP-asique est nécessaire, dans la vision, pour amplifier le signal reçu par la cellule photoréceptrice aux dépens de l'énergie de l'ATP. Comme nous l'avons déjà mentionné, l'œil humain est très sensible à la lumière: il est capable d'enregistrer quelques photons seulement. Le bâtonnet peut être stimulé par un photon d'une énergie de l'ordre de $4 \cdot 10^{-19}$ J (à $\lambda =$ $= 600$ nm). Selon la loi principale de la photochimie (la loi d'Einstein), un photon ne peut provoquer le réarrangement que d'une seule molécule de rhodopsine sur 10^9 molécules contenues dans un bâtonnet: la photosensibilité du bâtonnet est maximale.

Cependant, l'énergie d'un quantum ne suffit pas pour la stimulation physiologique de la cellule réceptrice. Comme le montre le calcul, une amplification de plusieurs milliers de fois est requise dans ce cas. Cette amplification aurait une nature biochimique et résulterait de l'hydrolyse enzymatique de l'ATP. Le mécanisme de ce processus hypothétique demeure pour l'instant totalement mystérieux.

Comme l'ont établi récemment Skoulatchev, Ostrovski et col., la fonction de la rhodopsine consiste à servir de *photogénérateur* engendrant une sorte de photocourant. Sous l'effet de la lumière la rhodopsine crée une différence de concentrations de protons. Cela provoque l'ouverture des pores dans les disques et la sortie des ions Ca^{2+}, ce qui engendre à son tour la fermeture des canaux à sodium sur la membrane externe et fait croître la valeur de $\Delta\psi$ sur celle-ci. La différence de potentiel est responsable de l'apparition de l'influx nerveux. La fonction de la rhodopsine visuelle se trouve semblable à la fonction de la *bactériorhodopsine* (v. § 14.8). Dans les deux cas on a affaire non pas à un *photosenseur*, mais à un photogénérateur de ΔpH. Les rhodopsines sont des *pompes à protons*, dont le fonctionnement est décrit par la théorie de Mitchell.

32—01676

C'est sur l'exemple des membranes photoréceptrices que l'on a le mieux étudié les propriétés liquides (cristoliquides) des membranes (cf. p. 350). Cela s'est avéré possible du fait que la rhodopsine est pratiquement la seule protéine qui fonctionne dans les membranes photoréceptrices, ce qui rend facile son observation.

Il est établi que les bâtonnets adaptés à l'obscurité présentent un dichroïsme. La lumière, polarisée perpendiculairement à l'axe long du bâtonnet, est absorbée plusieurs fois plus intensément que la lumière polarisée parallèlement à cet axe. Le chromophore de la rhodopsine est donc orienté parallèlement au plan de la membrane du disque. Or, sur ce plan les chromophores ont des orientations désordonnées et le dichroïsme est absent. Il est possible de réaliser une photoinduction du *dichroïsme* en décolorant partiellement la rhodopsine par l'action d'une lumière à polarisation plane. Dans les conditions ordinaires le dichroïsme n'apparaît pas du fait du mouvement rotatif brownien des molécules de rhodopsine dans la rétine. Mais dans une rétine traitée à l'aldéhyde glutarique on observe un dichroïsme photoinduit très fort. L'aldéhyde glutarique forme des ponts qui empêchent la rotation des molécules de rhodopsine. Le transfert d'énergie entre les molécules de rhodopsine, distancées de près de 7 nm, est impossible. La mobilité rotative de la rhodopsine dans la rétine est un fait prouvé. L'étude du photodichroïsme de transition lors de la photolyse par impulsions en témoigne également. Un éclairage intermittent conduit à un accroissement par sauts de l'absorption, déterminé par la transformation de la rhodopsine en prélumirhodopsine. Cet accroissement est beaucoup plus important dans le cas où les vecteurs de polarisation de la lumière agissante et de la lumière, dont l'absorption est mesurée, sont parallèles, que dans celui où ces vecteurs sont perpendiculaires. L'impulsion lumineuse induit un dichroïsme qui disparaît rapidement. Le demi-temps de disparition du dichroïsme à 20 °C s'élève à $3,0 \pm 1,5$ µs. Quand la température monte, ce processus s'accélère. Une augmentation de la viscosité du milieu ralentit la disparition du photodichroïsme.

Si la dépendance avec le temps est effectivement déterminée par la diffusion de rotation, elle est décrite par l'équation

$$\frac{\partial^2 n}{\partial \vartheta^2} = \tau \frac{\partial n}{\partial t}, \tag{14.7}$$

où n est la proportion des chromophores orientés dans l'intervalle entre ϑ et $\vartheta + d\vartheta$, ϑ l'angle que le chromophore forme avec le vecteur électrique de la lumière intermittente, τ le temps de relaxation. Pour un chromophore linéaire et une diffusion de rotation autour de l'axe perpendiculaire à la membrane du disque la solution de (14.7) a la forme

$$n = 1 + fe^{-4t/\tau} \cos 2\vartheta. \tag{14.8}$$

Le temps t est mesuré à partir du début de l'impulsion, $f \leqslant 1$ est un facteur empirique. Le rapport dichroïque s'écrit

$$\frac{\int_0^{\pi/2} n(\vartheta)\cos^2\vartheta\, d\vartheta}{\int_0^{\pi/2} n(\vartheta)\sin^2\vartheta\, d\vartheta} = \frac{2+fe^{-4t/\tau}}{2-fe^{-4t/\tau}}. \quad (14.9)$$

Dans les conditions idéales, lorsque $f=1$, le rapport initial maximal vaut 3. Cela correspond à la valeur trouvée pour une rétine fixée à l'aide de l'aldéhyde glutarique. Dans les expériences relatives à l'éclairage intermittent ce rapport valait 2 ($f = 0{,}7$). La valeur du temps de diffusion de rotation τ dépend de la viscosité du milieu η, de la température et des dimensions de la molécule chromophore. Selon Einstein, pour une sphère de rayon r subissant une rotation brownienne autour d'un certain axe,

$$\tau = \frac{8\pi r^3}{kT}\eta. \quad (14.10)$$

A 20 °C le temps τ pour la rhodopsine est approximativement égal à 20 µs, $r = 2{,}2$ à 2,8 nm, la rhodopsine est quasi sphérique et immergée dans la membrane. Il en découle que la viscosité de la membrane η s'élève à près de 0,2 Pa·s (entre 0,07 et 0,6 Pa·s) ; elle est donc voisine de la viscosité d'une huile légère telle que l'huile d'olive.

Lorsque les molécules de rhodopsine tournent par suite des transformations conformationnelles, le degré d'immersion de la rhodopsine dans la membrane bilipidique liquide varie, ce qui détermine dans une mesure considérable la variation de la perméabilité ionique de la membrane.

La constante de diffusion expérimentale pour les bâtonnets de la rétine de grenouille est égale à $3{,}5 \pm 1{,}5 \times 10^{-9}$ cm²·s⁻¹. La viscosité de la membrane était comprise dans le même intervalle de valeurs, entre 0,1 et 0,4 Pa·s. Le temps séparant les collisions des molécules voisines de rhodopsine dans la rétine (τ_c) est donné par la formule

$$s^2 = 4D\tau_c, \quad (14.11)$$

où s est la distance entre les molécules de rhodopsine. Si l'on pose le diamètre effectif de la rhodopsine égal à 4,5 nm et la distance séparant les centres des molécules à 7 nm, $s = 2{,}5$ nm et $\tau_c = 4$ µs, soit 5 fois moins que le temps de relaxation de la diffusion de rotation. La fréquence des collisions est comprise entre 10^5 et 10^6 s^{-1}.

Ces résultats, obtenus par Cone et col., sont très intéressants. Ils fournissent une base pour édifier une théorie du fonctionnement des membranes en partant de leurs propriétés fluides (cf. p. 350). On sait encore bien peu de choses sur les événements qui conduisent à

l'apparition de l'influx nerveux dans un système photorécepteur. Il est probable que ces événements sont intimement liés au comportement de la membrane liquide.

§ 14.7. Bactériorhodopsine

La rhodopsine ne fonctionne pas uniquement dans la rétine de l'œil. Une certaine région de la surface membranaire des halobactéries rouges (*Halobacterium halobium*) renferme une protéine dite bactériorhodopsine (BR). De masse moléculaire 26 000, la BR se compose d'une molécule protéique liée à une molécule de rétinal par l'intermédiaire d'une liaison aldiminique. Le maximum de la bande d'absorption de la BR est situé à 570 nm. Les *halobactéries* sont des halophiles extrêmes qui habitent dans les lacs salins. Elles possèdent une phototaxie positive vis-à-vis de la lumière visible et négative vis-à-vis de l'ultraviolet.

La BR associée aux lipides constitue le système qui assure le transport de protons à travers la membrane dans le sens opposé au gradient de pH. La BR fonctionne en tant qu'une pompe à protons photoinduite (Oesterhelt et Stockenius, 1971).

Le fonctionnement de la pompe à protons dans les bactéries halophiles est lié à la phosphorylation de l'ADP et au fonctionnement de la pompe à sodium qui assure le dessalement du milieu intérieur de la cellule bactérienne. La théorie de Mitchell (§ 13.3) serait applicable à ce système. Comme on l'a mentionné plus haut (p. 497), la rhodopsine visuelle fonctionne également en tant qu'un photogénérateur en jouant le rôle de pompe à protons.

A la différence des membranes des bâtonnets et des cônes, la membrane pourprée des bactéries est plutôt cristalline que liquide. Les molécules de BR sont groupées par trois en clusters et assemblées en un réseau hexagonal placé dans une matrice lipidique compacte. Au milieu du cluster il y a un canal de 1 à 2 nm de diamètre. Le taux d'hélices α de la molécule de BR s'élève à 70-80 %. Chaque molécule comporte 7 hélices α en forme de bâtonnets longues de 3,5 à 4 nm, orientées dans le sens perpendiculaire au plan de la membrane. La protéine a les dimensions $2{,}5 \times 3{,}5 \times 4{,}5$ nm^3. La BR traverse la membrane de part en part se trouvant en contact avec les phases aqueuses de part et d'autre de la membrane. Les molécules de BR sont asymétriques (v. p. 348). Vu la valeur du moment dipolaire de transition du rétinal (12 debyes), il faut s'attendre à ce que l'électron sera transporté, lors de l'absorption de la lumière, à une distance comparable à celle séparant les groupes terminaux du rétinal: noyau cyclohexénique et base de Schiff.

Au cours du transport photoinduit de protons on assiste à des changements de la conformation de la bactériorhodopsine et de son spectre. La forme BR_{570} adaptée à la lumière entre dans un cycle

de réactions photoinduites avec formation d'une série de composés intermédiaires, ces réactions aboutissant au transfert de H^+ à travers la membrane et à la régénération de la forme initiale BR_{570}. Le cycle est schématisé sur la figure 14.19. Chaque cycle complet correspond au transfert, à travers la membrane, d'un proton par quantum de lumière absorbé. A une étape déterminée du cycle la BR libère un proton dans le milieu acide (pH 3,0) se trouvant d'un côté de la membrane. Dans l'autre phase le même groupement absorbe un proton du milieu alcalin (pH 12,0) qui se trouve de l'autre côté de la membrane.

Tchernavskaïa et Tchernavski (1978) ont considéré ce processus sur la base du transport tunnel des électrons conduisant à une trans-

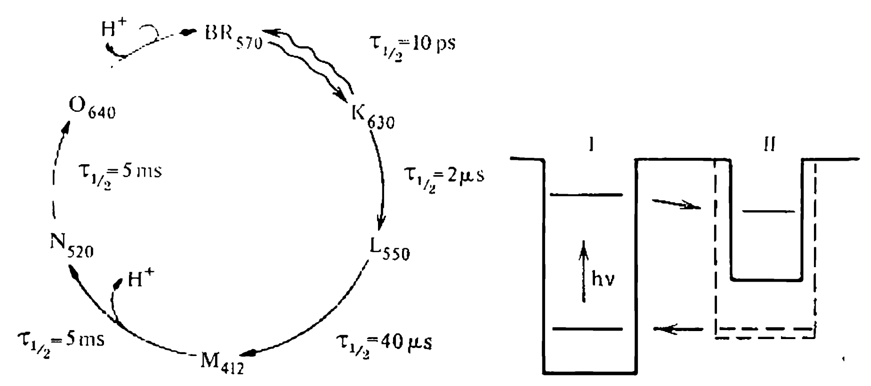


Fig. 14.19. Cycle de fonctionnement de la bactériorhodopsine

Fig. 14.20. Deux groupements électronophiles séparés par une barrière

formation intramoléculaire d'énergie (v. § 13.4). Le modèle se compose de deux puits de potentiel séparés par une barrière (fig. 14.20). Les puits correspondent aux groupements électronophiles : le noyau cyclohexénique du rétinal et l'azote du lysyle (lié au rétinal dans la base de Schiff). Le puits *I* comporte deux niveaux séparés par une distance égale à l'énergie du quantum absorbé. Le niveau du second puits est quelque peu inférieur au niveau le plus élevé du premier. L'électron est excité par la lumière dans le puits *I*, puis passe par effet tunnel du niveau supérieur dans le puits *II*. Par suite du rapprochement du proton, le puits *II* se polarise et son niveau électronique baisse. Le puits *I*, qui se trouve ainsi chargé positivement, se polarise à son tour : ses niveaux électroniques s'élèvent. Par la suite, la baisse du niveau dans *II* et son élévation dans *I* se poursuivent du fait des changements conformationnels qui sont une relaxation vers un nouvel état d'équilibre correspondant à une nouvelle répartition des charges. Ensuite il y a passage tunnel inverse de

l'électron de *II* sur le niveau inférieur de *I*, une nouvelle polarisation des deux puits et la relaxation conformationnelle vers l'état de départ. Le cycle s'achève. Les conditions de résonance, nécessaires pour l'effet tunnel, sont assurées par la polarisation et les transitions conformationnelles.

La variation de l'énergie libre du proton lors du passage tunnel de l'électron de *I* dans *II* s'écrit

$$\Delta G = \frac{e^2}{\varepsilon}\left(\frac{1}{r_2} - \frac{1}{r_1}\right), \tag{14.12}$$

où $e = 4{,}8 \cdot 10^{-10}$ u.e.s. est la charge de l'électron, $\varepsilon \approx 5$ la permittivité, r_2 la distance du proton au centre du puits *II*, r_1 au centre de *I*. Pour un proton proche de l'azote de la base de Schiff et participant à sa protonation, $r_2 = 0{,}25$ nm, $r_1 = 1{,}3$ nm, alors $\Delta G \approx 1$ eV. La variation correspondante de la constante de dissociation de ce groupe $\Delta \text{pK} = \Delta G/2{,}3\ kT = 17$. La variation de la constante est du même ordre, mais du signe opposé lors du passage tunnel dans le sens contraire. D'après ces estimations, les variations des propriétés du groupe considéré dues au passage tunnel de l'électron peuvent couvrir tout l'intervalle des pH observés : de 3 à 12.

L'abaissement du niveau électronique pour la polarisation s'exprime d'une façon analogue :

$$\Delta E = \frac{e^2}{\varepsilon}\left(\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2}\right), \tag{14.13}$$

r_1 et r_2 étant les distances du proton au centre du puits, respectivement, avant et après polarisation. Quand $r_2 = 0{,}25$ nm et $r_1 = 0{,}15$ nm, on trouve $\Delta E = 0{,}75$ eV. Les décalages des niveaux par suite des changements conformationnels sont du même ordre. Le rapprochement des niveaux, nécessaire pour le processus inverse, est réalisable.

Le processus consiste à protoner la base de Schiff, à détacher et à capter ce proton et d'autres, à polariser et à rotamériser le rétinal et la rhodopsine. On ne peut pas dire que ces phénomènes sont élucidés, malgré une série d'études intéressantes spectroscopiques et cinétiques. Le schéma proposé par Tchernavskaïa et Tchernavski n'entre pas en contradiction avec les résultats disponibles, mais il serait souhaitable d'avoir des preuves directes.

CHAPITRE 15

SIMULATION DES PROCESSUS BIOLOGIQUES DYNAMIQUES

§ 15.1. Ordre dynamique

Dans les chapitres précédents nous avons rencontré plus d'une fois un comportement non linéaire des systèmes biologiquement fonctionnels. Il suffit de rappeler la génération et la propagation de l'influx nerveux (Chapitre 11). Une fois atteint le seuil de la force d'excitation le système passe dans un autre état : il y a génération de l'influx nerveux. La génération a un caractère trigger. Des phénomènes triggers semblables se produisent dans tous les cas où l'on assiste à l'apparition d'un comportement ordonné des systèmes biologiques dans l'espace et dans le temps.

Nous avons déjà eu l'occasion de souligner les différences qui existent entre l'ordre statique de l'équilibre et l'ordre dynamique propre aux systèmes ouverts éloignés de l'équilibre: *systèmes dissipatifs* (§ 9.7). Revenons encore une fois à ce problème central de la biophysique théorique. Dans ce chapitre, ainsi que dans les chapitres suivants, nous allons considérer une série de modèles de systèmes dissipatifs biologiques en interprétant leur comportement à l'aide d'approches théoriques générales. Ces systèmes présentent des processus d'autoorganisation dans l'espace et dans le temps. Comme nous l'avons déjà dit, le domaine des sciences naturelles qui étudie les processus de ce type s'appelle *synergétique*.

Recommençons par les caractéristiques thermodynamiques des trois types de systèmes auxquels on a affaire en biophysique.

Le comportement d'un système isolé est complètement caractérisé par le second principe sous sa forme canonique: l'entropie du système tend à devenir maximale. Aucune autoorganisation, aucune transition de phase ne sont possibles dans un tel système.

Un système fermé qui échange de l'énergie, mais non pas de la matière avec le milieu environnant, est susceptible de transitions de phase vers un état statique, équilibré, ordonné. Le système est caractérisé par son énergie libre $G = H - TS$, tendant à devenir minimale. Lorsque la température est suffisamment basse, la contribution entropique à l'énergie libre devient petite, ce qui engendre, par exemple, un ordre cristallin statique.

Dans le cas des systèmes ouverts il faut savoir nettement distinguer deux types de comportement. Le comportement d'un système proche de l'équilibre est décrit dans le cadre de la thermodynamique linéaire (Chapitre 9). Là on a affaire à des structures d'équilibre modifiées par suite des contraintes qui empêchent la mise en équilibre. Un ordre dynamique est impossible dans ces conditions: les états stationnaires sont asymptotiquement stables, comme le montre la figure 15.1. La dépendance de la fonction de dissipation σ avec le paramètre ρ, décrivant le système, a son minimum σ_0 dans l'état stationnaire $\rho = \rho_0$ (théorème de Prigogine, p. 329). Quand ρ s'écarte de ρ_0, le système retrouve l'état ρ_0 de façon exponentielle, sans oscillations.

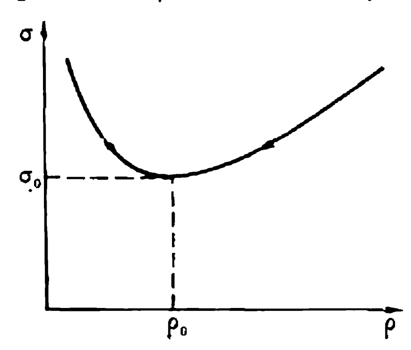


Fig. 15.1. Dépendance de σ avec ρ au voisinage de l'équilibre

Enfin, dans un système dissipatif — système ouvert loin de l'équilibre — apparaît un ordre dynamique, un comportement cohérent de l'ensemble, lorsque les valeurs des paramètres caractérisant le système correspondent à des *instabilités*.

Les situations propres aux systèmes ouverts loin de l'équilibre sont décrites en mêmes termes: variables thermodynamiques macroscopiques. L'ordre dynamique apparaît, lorsque les fluctuations, en augmentant, atteignent le niveau macroscopique. Il existe une analogie très poussée et très instructive entre ces processus et les *transitions de phase*: la formation d'une nouvelle structure biologique, d'une nouvelle espèce, est une sorte de transition de phase (v. § 15.5).

Un ordre dynamique peut apparaître dans un système dissipatif, quand les conditions de stabilité ne sont pas respectées: c'est le critère de sa possibilité. Voici de nouveau quelques relations de la thermodynamique des systèmes ouverts. La *fonction de dissipation* s'écrit

$$\sigma = \frac{d_i S}{dt} = \sum_j J_j X_j \geqslant 0. \tag{15.1}$$

Ses variations dans le temps ont la forme

$$\frac{d\sigma}{dt} = \frac{d_J \sigma}{dt} + \frac{d_X \sigma}{dt} = \sum_j X_j \frac{dJ_j}{dt} + \sum_j J_j \frac{dX_j}{dt}. \tag{15.2}$$

Si les conditions aux limites sont constantes, on a

$$\frac{d_X \sigma}{dt} \leqslant 0. \tag{15.3}$$

On en tire la condition de stabilité de l'état stationnaire considéré :

$$\sum_j \delta J_j \delta X_j \geqslant 0, \tag{15.4}$$

où δJ_j et δX_j sont les écarts des flux et des forces généralisés par rapport à leurs valeurs stationnaires. A proximité de l'équilibre cette condition est toujours vérifiée. Appliquée aux phénomènes chimiques, elle est de la forme

$$\sum_j \delta v_j \delta \mathcal{A}_j \geqslant 0. \tag{15.5}$$

Si la condition (15.4) n'est pas respectée, l'état stationnaire est instable et on peut s'attendre à une amplification des fluctuations conduisant à l'apparition d'un ordre dynamique. L'« ordre par fluctuations » n'est, évidemment, possible que dans un système ouvert, dont le comportement est essentiellement non linéaire.

En biologie on a affaire à plusieurs types de phénomènes témoignant directement de la non-linéarité des processus correspondants.

Premièrement, ce sont tous les processus triggers, à seuil, au cours desquels le système passe d'un régime à un autre, par exemple la génération de l'influx nerveux ou la contraction musculaire.

Deuxièmement, le comportement des cellules et des organismes à tous les niveaux d'organisation est à réguler et à contrôler, à l'aide, notamment, des rétroactions, absentes dans les systèmes linéaires.

Troisièmement, ce sont les phénomènes périodiques, oscillants. A tous les niveaux d'organisation, du niveau macromoléculaire à celui des populations, les systèmes biologiques présentent des oscillations entretenues de leurs paramètres caractéristiques: activité enzymatique, concentrations en métabolites, effectif d'une population.

Quatrièmement, tout système biologique, de la cellule à la biosphère entière, se développe, évolue d'une façon irréversible. Le développement implique dans tous les cas l'apparition de structures nouvelles, la création d'une information nouvelle: des processus essentiellement non linéaires.

Il est, probablement, nécessaire de considérer les états stationnaires multiples stables et instables des systèmes dissipatifs et les transitions entre ces états. Au fond, ces problèmes ne sont plus du ressort de la thermodynamique qui s'avère insuffisante pour décrire les systèmes non linéaires. La thermodynamique ne permet que de formuler les critères de la stabilité. Une étude plus poussée des systèmes autoorganisateurs requiert la simulation physico-mathématique, la construction de modèles dynamiques.

Cette simulation se fait à l'aide de l'appareil d'équations différentielles. Le problème de l'application de cet outillage aux systèmes biologiques n'est pas banal.

En règle générale, la « machine chimique » présente un ensemble discret de ses divers états. L'application des équations différentielles à un tel système revient à inclure ces états discrets dans un certain ensemble continu. Cette procédure n'entrave pas l'interprétation du comportement d'un système discret; bien plus, elle permet de l'analyser, si le modèle est bien choisi. D'autre part, l'utilisation des équations différentielles déterministes et continues peut s'avérer insuffisante dans l'étude de processus faisant intervenir un petit nombre de molécules ou d'individus. Ces processus sont *stochastiques*, probabilistes, leur analyse requiert l'application de la théorie des probabilités et, dans certains cas, de la *théorie des chaînes de Markov.* Pour chaque classe de modèles on choisit un outillage mathématique approprié. La simulation elle-même est déterminée par le processus étudié et dépend directement de l'échelle temporelle, dans laquelle il se développe. Dans tout système biologique il se produit une multitude de processus cinétiques non linéaires caractérisés par leurs propres temps.

Dans ce chapitre et dans les chapitres suivants nous considérons divers modèles de processus biologiques. La méthode principale est l'examen des équations différentielles décrivant la dynamique du modèle; dans un certain nombre de cas il nous faudra compléter cet examen par la résolution des problèmes stochastiques correspondants.

§ 15.2. Principes physico-mathématiques de la dynamique des processus non linéaires

Nous définirons la méthode d'étude d'un système biologique comme la construction d'un modèle dynamique et sa description au moyen d'équations différentielles; autrement dit, il s'agit de construire un système d'équations et d'analyser leurs solutions.

Une forme suffisamment générale du modèle mathématique se présente comme suit:

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= \mathcal{F}_1(x_1, \ldots, x_N), \\ &\cdots\cdots\cdots\cdots \\ &\cdots\cdots\cdots\cdots \\ \frac{dx_N}{dt} &= \mathcal{F}_N(x_1, \ldots, x_N), \end{aligned} \tag{15.6}$$

où $x_1, \ldots, x_N$ sont des variables physiques caractérisant le système et dépendant du temps et des conditions initiales, $\mathcal{F}_1, \ldots \mathcal{F}_N$ étant, dans le cas général, des fonctions non linéaires de ces variables. Ainsi, les quantités x_i peuvent exprimer les concentrations des métabolites ou les nombres d'individus.

La méthode habituelle d'analyse des équations non linéaires de la forme (15.6) consiste à les linéariser. On cherche les valeurs sta-

tionnaires des variables $x_1^0, x_2^0, \ldots, x_N^0$ qui sont solutions des équations (15.6) pour $\dot{x}_1 = \ldots = \dot{x}_N = 0$. Ensuite on étudie les équations linéaires écrites en termes de variables présentant de faibles écarts par rapport aux valeurs stationnaires: $x_i - x_i^0$. Dans ce cas on peut négliger les termes du second ordre de petitesse, non linéaires par rapport à $x_i - x_i^0$.

Nous examinerons pour commencer un modèle linéaire simple: oscillateur avec frottement. L'équation du mouvement a la forme

$$m\ddot{x} + b\dot{x} + kx = 0. \tag{15.7}$$

Elle ne renferme qu'une seule variable, l'écart à la position d'équilibre x. Mais nous pouvons passer à un système de deux équations de la forme (15.6) en introduisant une seconde variable: la vitesse $y = \dot{x}$. On a alors

$$\dot{x} = y, \quad \dot{y} = \frac{b}{m} y - \frac{k}{m} x. \tag{15.8}$$

Les deux équations sont linéaires, ainsi que celle de départ (15.7). Sa solution est de la forme

$$x = A_1 \exp(\lambda_1 t) + A_2 \exp(\lambda_2 t), \tag{15.9}$$

où λ_1 et λ_2 sont les racines de l'équation quadratique (v. plus loin p. 512)

$$\lambda^2 + \frac{b}{m}\lambda + \frac{k}{m} = 0. \tag{15.10}$$

Ces racines sont réelles, lorsque $b^2 > 4km$, et complexes, lorsque $b^2 < 4km$. Dans le premier cas le processus a le caractère d'un amortissement apériodique, dans le second celui d'oscillations amorties. Les valeurs de A_1 et de A_2 sont déterminées par les conditions initiales.

Une méthode rationnelle d'étude d'un système dynamique consiste à obtenir son « portrait de phase ». Le comportement du système est représenté par le mouvement du point figuratif sur le plan de phase x, y, où $y = \dot{x}$. Si le nombre de variables est supérieur à deux, il ne s'agit plus d'un plan, mais d'un espace des phases. Toutefois, dans nombre de cas il est possible de se limiter aux systèmes du second ordre de la forme (15.8), i.e. $N = 2$.

Sur le plan de phase le point se déplace suivant la trajectoire de phase avec la vitesse de phase. Nous obtiendrons l'équation de la trajectoire de phase pour un oscillateur à frottement, en éliminant le temps entre les équations (15.8). Pour le faire, nous diviserons la deuxième équation par la première:

$$\frac{dy}{dx} = -\frac{2hy + \omega_0^2 x}{y}, \tag{15.11}$$

où $2h = b/m$, $\omega_0^2 = k/m$. Cette équation décrit les courbes intégrales, en chaque point desquelles la tangente a une pente égale à dy/dx. Avec (15.8), l'équation (15.11) définit, sur le plan de phase, un champ vectoriel ayant le seul point singulier $x = 0$, $y = 0$. Il est commode d'étudier ce champ à l'aide d'*isoclines*: courbes (qui sont des droites

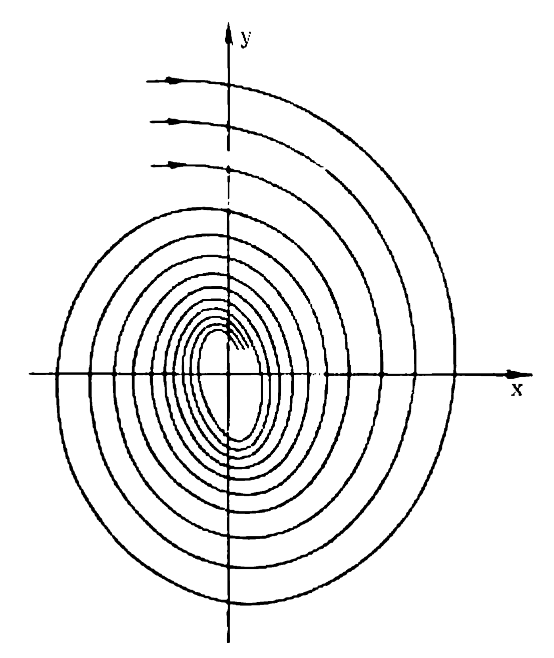


Fig. 15.2. **Courbes intégrales** sur le plan de phase pour les **oscillations** amorties de l'oscillateur à frottement

dans le cas présent) étant le lieu géométrique des points, dans lesquels les tangentes à toutes les courbes intégrales ont la même inclinaison. Dans le cas de l'oscillateur l'équation de l'isocline à inclinaison $\varkappa$ a la forme

$$dy/dx = \varkappa$$

ou bien

$$y = ax = -\frac{\omega_0^2}{\varkappa + 2h} x. \qquad (15.12)$$

Ainsi, les isoclines sont des droites qui passent par l'origine des coordonnées, le point singulier $x = 0$, $y = 0$.

La solution de l'équation (15.11) pour $b^2 < 4k/m$ ou $h^2 < \omega_0^2$ a la forme d'une équation

$$y^2 + 2hxy + \omega_0^2 x^2 = C \exp\left(2 \frac{h}{\omega_0} \operatorname{arctg} \frac{y + hx}{\omega_0 x}\right), \qquad (15.13)$$

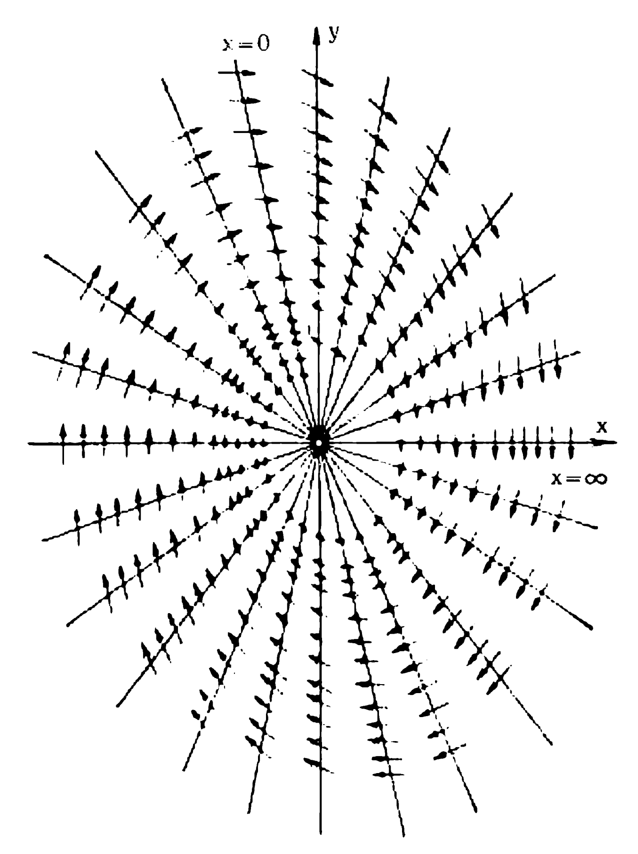


Fig. 15.3. Champ vectoriel pour l'oscillateur à frottement

où C est une constante définie par les conditions initiales. A cette solution correspond une famille de spirales logarithmiques représentée sur la figure 15.2. Le champ vectoriel construit à l'aide d'isoclines est montré sur la figure 15.3.

On tire la vitesse de phase de l'équation suivante:

$$\boldsymbol{v} = \boldsymbol{i}\dot{x} + \boldsymbol{j}\dot{y}, \tag{15.14}$$

où $\boldsymbol{i}$ et $\boldsymbol{j}$ sont des vecteurs unité. Dans notre cas il découle des équa tions (15.8) que

$$v = iy + \boldsymbol{j}\,(-2hy - \omega_0^2 x)$$

et

$$|\,\boldsymbol{v}\,|^2 = \dot{x}^2 + \dot{y}^2 = \omega_0^4 x^2 + 4h\omega_0^2 xy + (1 + 4h^2)\, y^2.$$

La vitesse de phase décroît au fur et à mesure qu'on se rapproche de l'origine des coordonnées et s'annule dans ce point.

Lorsque $h = 0$, soit $b = 0$, le frottement est absent et le système devient un oscillateur harmonique entretenu. Les courbes intégrales forment une famille d'ellipses:

$$y^2 + \omega_0^2 x^2 = \text{const.} \qquad (15.15)$$

L'équation des isoclines est de la forme $y = -\omega_0^2 x/\varkappa$, la vitesse de phase $v = iy - j\omega_0^2 x$.

Pour un processus apériodique amorti $b^2 > 4k/m$, soit $h^2 > \omega_0^2$. Les racines de l'équation caractéristique

$$\lambda_{1,2} = -h \pm \sqrt{h^2 - \omega_0^2}.$$

Le « portrait de phase » du système est représenté sur la figure 15.4.

Dans les exemples ci-dessus on a affaire à divers types de points singuliers situés, dans les trois cas, à l'origine des coordonnées. Pour

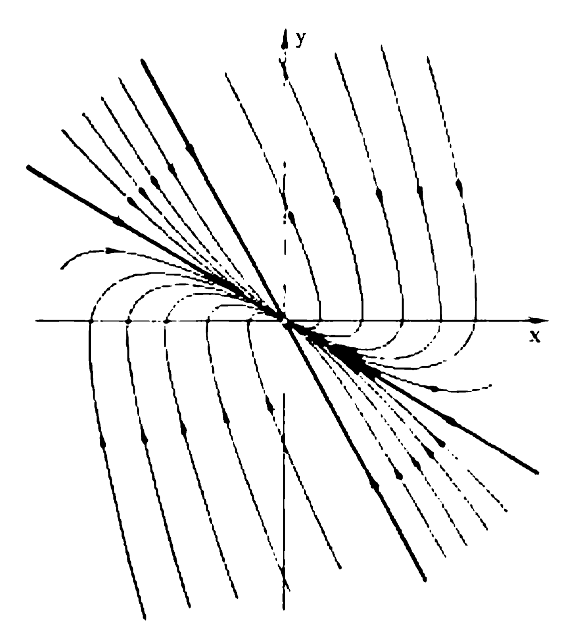


Fig. 15.4. Courbes intégrales pour l'amortissement apériodique de l'oscillateur à frottement

un oscillateur harmonique sans frottement toutes les courbes de phase sont fermées et ont la forme d'une ellipse. Elles embrassent un point singulier dit *centre*. Dans le cas des oscillations amorties le point singulier se présente comme le point asymptotique de toutes les courbes ayant la forme de spirales rentrant les unes dans les autres. Un tel point est appelé *foyer* (point focal). Enfin, lors d'un amortisse-

ment apériodique toutes les courbes passent par un point singulier dénommé *nœud* (point nodal).

Procédons à une analyse générale des points singuliers pour un système de second ordre. On a deux équations différentielles non linéaires :

$$\dot{x} = a_1 x + a_2 y + X_2 (x, y),$$
$$\dot{y} = b_1 x + b_2 y + Y_2 (x, y), \tag{15.16}$$

où X_2, Y_2 sont des polynômes qui renferment des termes d'un ordre supérieur à l'unité par rapport à x et à y. Les seconds membres des équations s'annulent à l'origine des coordonnées $x = 0$, $y = 0$. Il s'agit donc du point singulier correspondant à l'état stationnaire $\dot{x} = 0$, $\dot{y} = 0$. En se limitant à l'approximation linéaire (en ne considérant que le voisinage de ce point), on a

$$x = a_1 x + a_2 y, \quad \dot{y} = b_1 x + b_2 y. \tag{15.17}$$

La courbe intégrale est

$$\frac{dy}{dx} = \frac{b_1 x + b_2 y}{a_1 x + a_2 y}. \tag{15.18}$$

On cherche les solutions des équations (15.17) sous la forme

$$x = A \exp (\lambda t), \quad y = B \exp (\lambda t).$$

Substituons ces solutions dans (15.17). On aura alors deux équations homogènes par rapport à x et y. La condition de leur compatibilité est de la forme

$$\begin{vmatrix} a_1 - \lambda & a_2 \\ b_1 & b_2 - \lambda \end{vmatrix} = 0$$

ou

$$\lambda^2 - (a_1 + b_2) \lambda + a_1 b_2 - a_2 b_1 = 0. \tag{15.19}$$

Cette équation quadratique ayant deux racines, λ_1 et λ_2, et le système d'équations (15.17) étant linéaire, sa solution complète a la forme

$$x = A_1 \exp (\lambda_1 t) + A_2 \exp (\lambda_2 t),$$
$$y = B_1 \exp (\lambda_1 t) + B_2 \exp (\lambda_2 t).$$

Les valeurs de A_1, A_2, B_1, B_2 sont déterminées par les conditions initiales, i.e. les valeurs de x, y, $\dot{x}$, $\dot{y}$ à $t = 0$.

Pour un oscillateur à frottement, $a_1 = 0$, $a_2 = 1$, $b_1 = -\omega_0^2$, $b_2 = -2h$.

La classification générale des points singuliers, due à Poincaré, se fonde sur le comportement des courbes intégrales au voisinage immédiat de ces points.

Si le discriminant de l'équation caractéristique $D = -(a_1 - b_2)^2 - 4a_2b_1 \leqslant 0$, les deux racines λ_1 et λ_2 sont réelles. Si, dans ce cas, $a_1b_2 - a_2b_1 > 0$, elles ont les mêmes signes. On a les cas suivants:

1. $\lambda_1, \lambda_2 < 0$. La solution a la forme d'exponentielles décroissant avec le temps: le système écarté du point singulier y revient. Le point singulier est un *nœud stable.*

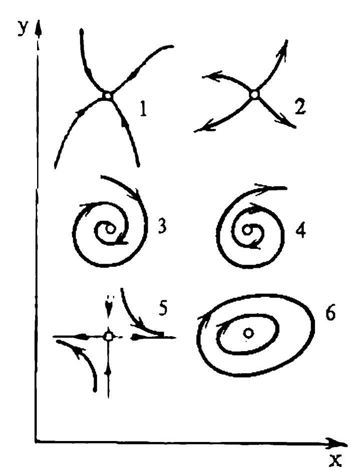


Fig. 15.5. Types des points singuliers:
1 — nœud stable, *2* — nœud instable, *3* — foyer stable, *4* — foyer instable, *5* — col, 6 — centre

2. $\lambda_1, \lambda_2 > 0$. Le système s'éloigne du point singulier qui est un *nœud instable.*

3. Lorsque $D \leqslant 0$ et $a_1b_2 - a_2b_1 < 0$, les racines λ_1, λ_2 ont les signes opposés. Le point singulier, instable, est appelé *col.* Il est traversé par deux courbes intégrales dites *séparatrices.* Les autres trajectoires de phase s'éloignent à l'infini sans passer par le point singulier.

4. Lorsque $D < 0$, mais $a_1b_2 - a_2b_1 = 0$, soit $D = -(a_1 + b_2)^2$, on a $\lambda_1 = 0$, $\lambda_2 = a_1 + b_2$. Une des racines est nulle. Il vient alors, pour le système linéaire (15.17), non pas un point singulier, mais une droite correspondant aux états stationnaires et sur laquelle se terminent toutes les autres droites intégrales; le sens du mouvement le long de ces droites dépend du signe de λ_2.

Quand le discriminant $D > 0$, les racines λ_1, λ_2 sont complexes conjuguées.

5. Les parties réelles de λ_1, λ_2 sont négatives, i.e. $a_1 + b_2 < 0$. Le système est le siège des oscillations amorties; le point singulier, sur lequel s'enroulent les trajectoires de phase spiroïdales, est un *foyer stable.*

6. Les parties réelles de λ_1, λ_2 sont positives: $a_1 + b_2 > 0$. Le point singulier est un *foyer instable* correspondant à des oscillations croissantes en amplitude.

7. Les racines $\lambda_1 = -\lambda_2$ sont imaginaires: $a_1 + b_2 = 0$. Le système présente des oscillations non amorties, le point singulier est un *centre.* Les trajectoires de phase sont des ellipses concentriques.

Les différentes espèces des points singuliers sont montrées sur la figure 15.5.

Le point singulier représente un équilibre stable ou instable, ou bien un état stationnaire. Selon Liapounov, la définition de la sta-

bilité d'un état d'équilibre (applicable également à l'état stationnaire) est la suivante:

« Un état d'équilibre est stable, lorsque, pour toute région ε donnée d'écarts admissibles à l'état d'équilibre, il existe une région δ (ε) entourant cet état et possédant une faculté telle qu'aucun mouvement commençant à l'intérieur de δ n'atteint jamais la frontière de la région ε ». Inversement, un état d'équilibre est instable, lorsqu'il y a une région ε, pour laquelle la région δ (ε) n'existe pas. Supposons que la région ε sur le plan de phase est un carré; dans ce cas l'état $x = x_0$, $y = y_0$ est stable, si, en donnant à l'avance une valeur positive de ε aussi petite que l'on veut, on peut trouver une région δ (ε) telle que si pour $t = 0$

$$| x(0) - x_0 | < \delta \text{ et } | y(0) - y_0 | < \delta,$$

on aura, pour $t \to \infty$,

$$| x(t) - x_0 | < \varepsilon \text{ et } | y(t) - y_0 | < \varepsilon.$$

C'est à ce type de stabilité et d'instabilité que nous avons affaire.

La théorie des systèmes dynamiques non linéaires exposée ici a été développée par les écoles de Mandelstam et d'Andronov.

La théorie des systèmes dynamiques non linéaires distingue les systèmes « *grossiers* » et « *non grossiers* ». Dans le premier cas les petites variations des paramètres du système ne modifient pas son comportement général: le modèle mathématique est stable vis-à-vis des faibles variations de la forme des équations différentielles. Les situations 1, 2, 3, 5, 6 ci-dessus caractérisent les systèmes de ce type. Par contre, dans les cas 4 et 7 les systèmes sont plus « fins ». En effet, dans le cas 4 la valeur du paramètre $a_1b_2 - a_2b_1 = 0$ est critique: quand on passe de la valeur positive à la valeur négative du paramètre, le nœud stable se voit remplacer par le col. Dans le cas 7 c'est la valeur $a_1 + b_2 = 0$ qui est critique: lors de la transition $a_1 + b_2 > 0 \to a_1 + b_2 = 0 \to a_1 + b_2 < 0$ la nature des points singuliers subit les transformations suivantes: foyer instable $\to$ centre $\to$ foyer stable.

Les valeurs des paramètres du système qui correspondent aux modifications de son comportement sont dites valeurs critiques ou *points de bifurcation.*

Revenons à l'équation caractéristique d'un système à deux degrés de liberté (15.19). Récrivons-la sous la forme

$$\lambda^2 + p\lambda + q = 0. \qquad (15.19a)$$

Les coefficients p, q sont des fonctions des paramètres du système: dans notre cas des paramètres a_1, a_2, b_1, b_2. Il est aisé de représenter les régions des différents points singuliers sur le plan p, q (fig. 15.6). Les racines λ_1, λ_2 ne possèdent une partie réelle négative qu'à $p > 0$, $q > 0$. Les racines complexes correspondant aux foyers ne sont si-

tuées que dans la région $q > p^2/4$, i.e. entre les branches de la parabole $q = p^2/4$, alors que la région $q < p^2/4$ est celle des nœuds. Les centres sont disposés du côté positif de l'axe d'ordonnées: à $p = 0$, $q > 0$. Au cours de la variation des paramètres du système le point figuratif peut traverser la frontière d'une région. Dans ce cas il y a *bifurcation*.

Les cas particuliers de points critiques correspondant aux différents types d'instabilités structurales sont considérés dans le cadre de la « *théorie des catastrophes* » de Thom. Cette théorie est liée à celle que nous venons d'exposer. Il est encore difficile d'indiquer un domaine de la biophysique où la théorie des catastrophes aurait fourni des résultats intéressants.

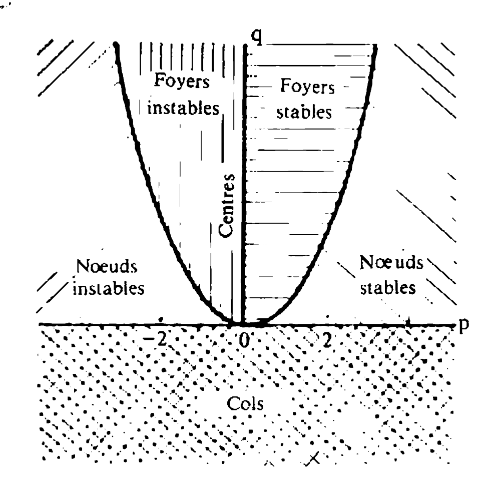


Fig. 15.6. Régions des points singuliers

Parmi les systèmes linéaires considérés seul l'oscillateur harmonique sans frottement possède des trajectoires de phase fermées répondant à un mouvement périodique. Dans un tel système, dit conservatif, l'énergie est constante. Les processus périodiques sont impossibles dans les systèmes non conservatifs linéaires.

Le comportement oscillatoire des systèmes non linéaires a un caractère complexe et varié. Son étude présente un intérêt fondamental pour un grand nombre de problèmes physiques, y compris les problèmes de la biophysique.

Les équations générales (15.6) sont non linéaires, ainsi que les équations (15.16) que nous avons linéarisées pour pouvoir analyser le voisinage des points singuliers. Toutefois, une telle analyse ne renseigne pas sur le comportement du système non linéaire sur tout le plan de phase. Nous rencontrerons encore, dans notre exposé ultérieur, des systèmes non linéaires caractérisés par des points singuliers multiples.

Les biologistes prêtent une attention particulière aux *systèmes auto-oscillants* où, malgré la présence de frottement, sont engendrées et entretenues des oscillations permanentes. Cela se fait aux dépens de forces dépendant de l'état de mouvement du système même. L'amplitude des auto-oscillations est déterminée par les propriétés du système et non par les conditions initiales. Les trajectoires de phase vont des points singuliers instables vers l'infini ou

vers les points stables. Or, dans le cas des auto-oscillations, ces trajectoires « s'enroulent » sur une courbe fermée embrassant le point singulier : sur le *cycle limite* (fig. 15.7). Les cycles limites peuvent, à leur tour, être instables. Ces situations sont inhérentes aux systèmes grossiers, y compris, probablement, une série de systèmes biologiques. Le cycle limite stable représenté sur la figure 15.7 correspond à des auto-oscillations permanentes. Nous avons déjà rencontré ce phénomène en examinant les propriétés des muscles de vol des insectes.

Les systèmes dynamiques chimiques et biologiques qui nous intéressent ici ont les particularités suivantes.

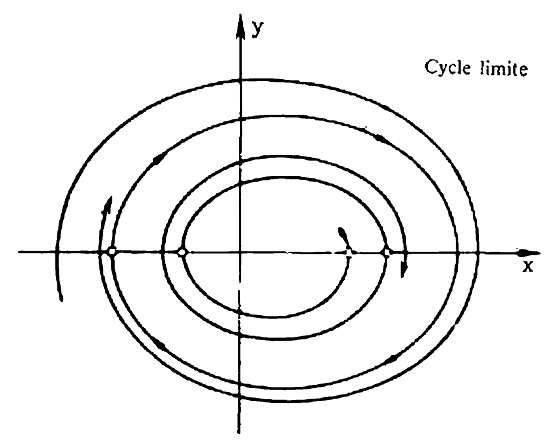


Fig. 15.7. Cycle limite

1. Ce sont les concentrations des réactifs qui jouent le rôle de variables dynamiques en chimie et dans certains problèmes biologiques. En partant des mêmes principes, on considère comme variables les nombres d'organismes (en génétique de la population et en écologie).

2. Dans un système chimico-biologique les phénomènes chimiques sont liés aux processus de diffusion, au transport de matière. Autrement dit, il s'agit là de *systèmes distribués* et non ponctuels. C'est la *compartimentation* — subdivision du système en « compartiments » séparés par des membranes — qui intéresse particulièrement la biologie. Un tel système est hétérogène aussi bien chimiquement que spatialement.

3. Dans les systèmes chimiques de la nature vivante les réactions chimiques non linéaires sont associées, en plus du transport de matière, à des processus mécaniques et électriques.

4. Dans nombre de processus chimico-biologiques on a affaire à de bien petites quantités de molécules. La notion même de concen-

tration n'est applicable, dans ces cas-là, que d'une façon limitée; on se trouve obligé d'utiliser, en qualité de variables dynamiques, les probabilités de tels ou tels états moléculaires.

Les modèles mathématiques des processus biologiques sont souvent très complexes, ils comportent beaucoup de variables et décrivent un comportement à stades multiples. Il est pourtant possible d'y appliquer un traitement simplifié qui consiste à ramener un grand ensemble d'équations à deux ou trois équations non linéaires.

Admettons que nous avons réussi, après une série de transformations et en choisissant l'échelle appropriée, à disposer le système d'équations non linéaires (15.6) suivant les puissances d'un petit paramètre $\varepsilon \ll 1$ pour la dérivée

$$\begin{aligned} \varepsilon^2 \dot{x}_i &= \mathcal{F}_i (x_1, \ldots, x_N), \; i = 1, 2, \ldots, l, \\ \varepsilon \dot{x}_j &= \mathcal{F}_j (x_1, \ldots, x_N), \; j = l + 1, \ldots, l + m, \\ \dot{x}_k &= \mathcal{F}_k (x_1, \ldots, x_N), \; k = l + m + 1, \ldots, N. \end{aligned} \tag{15.20}$$

Les coefficients ε^2 et ε définissent les vitesses de variation des variables x. En effet, il est possible de récrire le système (15.20) sous la forme

$$\dot{x}_i = \tau_1^{-1} \mathcal{F}_i, \quad \dot{x}_j = \tau_2^{-1} \mathcal{F}_j, \quad \dot{x}_k = \tau_3^{-1} \mathcal{F}_k,$$

où $\tau_1 = \varepsilon^2$, $\tau_2 = \varepsilon$, $\tau_3 = 1$, soit $\tau_1 \ll \tau_2 \ll \tau_3$. S'il importe de connaître le comportement du système aussi bien pendant les temps courts de l'ordre de τ_1 que pendant les temps beaucoup plus longs de l'ordre de τ_3, on est obligé de considérer le système en entier. Dans d'autres cas la situation est différente. Ainsi, quand il faut surtout savoir ce qui se passe durant les temps moyens de l'ordre de τ_2, le système se simplifie. En effet, dans ce cas les variables « lentes » x_k n'ont pas le temps de varier et on peut les remplacer par les valeurs initiales constantes. Par contre, les variables « rapides » x_i ont le temps d'atteindre leurs valeurs stationnaires, si ces dernières existent. On peut donc remplacer les variables x_i par leurs valeurs stationnaires. On réduit ainsi N équations à m équations seulement. Nous utiliserons plus d'une fois ce procédé de simplification dans notre exposé ultérieur.

§ 15.3. Modèles de Lotka et de Volterra

La simulation physico-mathématique des processus biologiques a débuté par le modèle de réaction chimique autocatalytique proposé par Lotka (1920) et le modèle « *prédateur-proie* » de Volterra (1930). Ces modèles présentent beaucoup de traits communs. Tout en se trouvant parmi les plus simples modèles décrivant le comportement des systèmes non linéaires, ils sont essentiels pour toute une série de

problèmes chimiques et biologiques. Nous commencerons donc par examiner ces modèles qui nous fourniront des exemples de la dynamique non linéaire, dont nous avons besoin.

Lotka a considéré le système de réactions

$$A \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} X, \qquad (I)$$

$$X + Y \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} 2Y, \qquad (II)$$

$$Y \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} E. \qquad (III)$$

La réaction totale est $A \rightleftarrows E$. Le stade (II) est autocatalytique. Le corps A étant en excès, la réaction (I) est d'ordre zéro.

L'affinité générale correspondant à la réaction totale (cf. p. 320) s'écrit

$$\mathcal{A} = \mathcal{A}_{I} + \mathcal{A}_{II} + \mathcal{A}_{III} = RT \ln \frac{k_1 k_2 k_3 [A]}{k_{-1} k_{-2} k_{-3} [E]}. \qquad (15.21)$$

Au voisinage de l'équilibre le système est linéaire:

$$v_{I}^{0} = k_1 \frac{\mathcal{A}_I}{RT}, \quad v_{II}^{0} = k_2 X_{eq} Y_{eq} \frac{\mathcal{A}_{II}}{RT}, \; v_{III}^{0} = k_3 Y_{eq} \frac{\mathcal{A}_{III}}{RT}. \qquad (15.22)$$

La condition de stabilité a la forme

$$k_1 (\delta \mathcal{A}_I)^2 + k_2 X_{eq} Y_{eq} (\delta \mathcal{A}_{II})^2 + k_3 Y_{eq} (\delta \mathcal{A}_{III})^2 \geqslant 0. \qquad (15.23)$$

Elle est vérifiée à proximité de l'équilibre (cf. p. 341). Loin de l'équilibre il devient possible de négliger les réactions inverses en posant $k_{-1} = k_{-2} = k_{-3} = 0$. Alors $\mathcal{A} \to \infty$. Les équations cinétiques sont non linéaires et asymétriques:

$$\dot{X} = k_1 - k_2 XY, \quad \dot{Y} = k_2 XY - k_3 Y, \quad \dot{E} = k_3 Y. \qquad (15.24)$$

L'unique solution stationnaire correspond à la condition $\dot{X} = \dot{Y} = 0$. On a

$$X^0 = k_3/k_2, \quad Y^0 = k_1/k_3.$$

Comment le système se comportera-t-il loin de l'équilibre? Nous l'examinerons en partant du modèle « prédateur-proie » étudié par Volterra.

Une certaine zone fermée est habitée par des prédateurs et leurs proies; mettons qu'il s'agit de lynx et de lièvres. Les lynx ne se nourrissent que de lièvres et les lièvres, de la nourriture végétale qu'ils trouvent en abondance. X représente le nombre de proies, Y celui de prédateurs. Le comportement dans le temps des deux populations

est décrit par les équations

$$\dot{X} = k_1X - kXY, \quad \dot{Y} = k'XY - k_2Y. \tag{15.25}$$

La constante k_1 caractérise la multiplication des proies, la constante k leur disparition par suite des rencontres avec les prédateurs, k' la multiplication des prédateurs qui implique qu'ils se nourrissent (rencontrent leurs proies), k_2 la mortalité des prédateurs. Les équations (15.25) ressemblent, dans les grandes lignes, aux équations (15.24). Trouvons les valeurs stationnaires des variables des équations (15.25), lorsque $\dot{X} = \dot{Y} = 0$:

$$X^0 = k_2/k', \quad Y^0 = k_1/k.$$

Représentons X et Y sous la forme

$$X = X^0e^{\alpha}, \quad Y = Y^0e^{\beta}, \tag{15.26}$$

où $\alpha = \ln (X/X^0)$ et $\beta = \ln (Y/Y^0)$ sont les mesures de l'écart de X et Y à l'état stationnaire pour lequel $\alpha = \beta = 0$. Les équations (15.25) prennent alors la forme

$$\frac{1}{k}\dot{\alpha} = Y^0(1-e^{\beta}), \quad \frac{1}{k'}\dot{\beta} = -X^0(1-e^{\alpha}). \tag{15.27}$$

Multiplions la première équation par X^0 $(1 - e^{\alpha})$ et la seconde par Y^0 $(1 - e^{\beta})$ et additionnons les produits:

$$\frac{1}{k}X^0\dot{\alpha}(1-e^{\alpha}) + \frac{1}{k'}Y^0\dot{\beta}(1-e^{\beta}) = 0,$$

soit

$$\frac{d}{dt}\left[\frac{1}{k}X^0(e^{\alpha}-\alpha) + \frac{1}{k'}Y^0(e^{\beta}-\beta)\right] = 0,$$

i.e.

$$\frac{1}{k}X^0(e^{\alpha}-\alpha) + \frac{1}{k'}Y^0(e^{\beta}-\beta) = K = \text{const.} \tag{15.28}$$

La quantité K est la constante de mouvement. Les deux termes dans K sont positifs, car $e^{\alpha} > \alpha$, si $\alpha > 0$ et $e^{\alpha} > 0$, si $\alpha < 0$.

Introduisons les notations $e^{\alpha} = \varphi$ et $e^{\beta} = \psi$. Après avoir multiplié les deux membres de (15.28) par kk', il vient (vu que $k'X^0 = k_2$ et $kY^0 = k_1$):

$$k_2(\varphi - \ln\varphi) + k_1(\psi - \ln\psi) = Kkk' = \text{const.}$$

La division par k_1k_2 donne

$$\frac{1}{k_1}(\varphi - \ln\varphi) + \frac{1}{k_2}(\psi - \ln\psi) = K\frac{kk'}{k_1k_2} = \text{const.}$$

Procédons à l'exponentiation

$$(\varphi e^{-\varphi})^{1/k_1}(\psi e^{-\psi})^{1/k_2} \equiv UV = \text{const.} \tag{15.29}$$

L'équation $UV =$ const est celle d'une hyperbole, représentée graphiquement sur la figure 15.8, *a*. Les figures 15.8, *b* et *c* montrent le comportement des fonctions $V(\psi)$ et $U(\varphi)$. Ces courbes possèdent des maximums. La dépendance de φ avec ψ qui découle de (15.29) est montrée sur la figure 15.8, *d*. Aux maximums de U et V correspondent les points A et B sur l'hyperbole. Le mouvement entre ces deux points limites sur le plan φ, ψ donne un cycle, dont

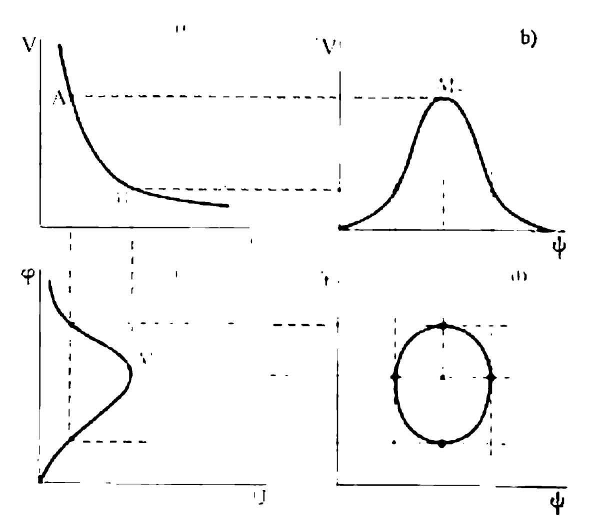


Fig. 15.8. Construction des courbes intégrales pour le modèle de Volterra-Lotka. L'explication est donnée dans le texte

la forme dépend des conditions initiales. A l'état stationnaire correspondent les points A et B de l'hyperbole, les points des maximums M_1 et M_2 sur les courbes $U(\varphi)$ et $V(\psi)$ et un point singulier du type centre sur le plan φ, ψ.

Déterminons le comportement du système au voisinage du point singulier. On linéarise le système (15.25) en cherchant sa solution sous la forme

$$X = X^0 + xe^{\lambda t}, \quad Y = Y^0 + ye^{\lambda t}, \tag{15.30}$$

à condition que $|x|, |y| \ll X^0, Y^0$. En négligeant les termes non linéaires par rapport à x, y, on obtient

$$\lambda x + \frac{kk_2}{k'} y = 0, \quad -\frac{k'k_1}{k} x + \lambda y = 0. \tag{15.31}$$

La condition de compatibilité de ces deux équations est l'équation caractéristique

$$\lambda^2 + k_1k_2 = 0 \tag{15.32}$$

et $\lambda = i\omega$ est une quantité imaginaire. La fréquence d'oscillations s'écrit

$$\nu = \frac{\omega}{2\pi} = \frac{1}{2\pi}\sqrt{k_1 k_2}. \tag{15.33}$$

Elle ne dépend pas des constantes k, k', alors que les amplitudes des oscillations sont, au contraire, fonction des quatre constantes. Il découle de (15.31) et de (15.32) que

$$\frac{|x|}{|y|} = \frac{k}{k'}\sqrt{\frac{k_2}{k_1}}. \tag{15.34}$$

Ainsi, les populations X et Y subissent des oscillations périodiques de même fréquence, décalées en phase. Pour comparer, la figure 15.9 représente la dynamique des populations de lièvres et de lynx

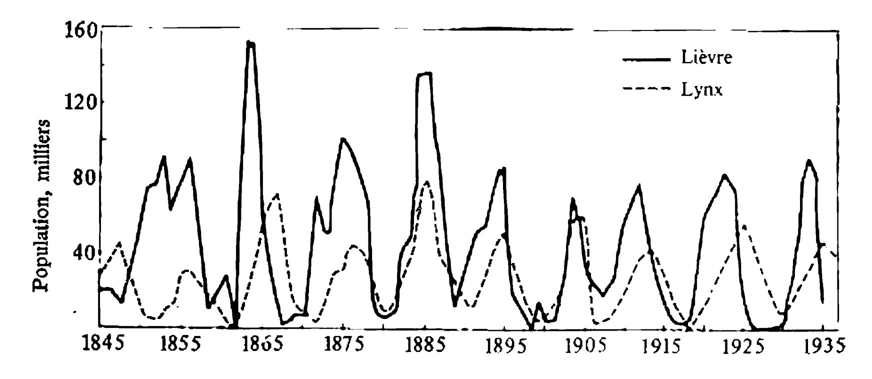


Fig. 15.9. Dynamique des populations des lièvres et des lynx au Canada entre 1845 et 1935

au Canada entre 1845 et 1935, d'après les statistiques d'une compagnie pelletière. La raison de ce comportement est évidente. Supposons qu'au début les lièvres ont été nombreux. Alors les lynx se sont propagés et le nombre de lièvres a diminué. Cela a provoqué, à son tour, un décroissement du nombre de lièvres suivi d'une baisse de celui de lynx ; puis les lièvres se sont de nouveau multipliés et ainsi de suite. Dans les cas simples on peut juger qualitativement des résultats que donnera l'application du modèle mathématique. Mais on ne saura, sans analyse, établir ni la fréquence, ni l'amplitude des oscillations de X et Y. Dans les cas plus compliqués le modèle mathématique découvre des particularités qui n'étaient pas du tout évidentes dès le départ.

Nous avons examiné le comportement d'un système conservatif. En réalité, les populations de telles ou telles espèces ne peuvent croître que jusqu'à une certaine limite : valeurs $X^{(m)}$, $Y^{(m)}$ qui cor-

respondent à la saturation. La limite de la reproduction des proies est donnée par la relation suivante (Verhulst):

$$\dot{X} = k_1 X \frac{X^{(m)} - X}{X^{(m)}} - kXY. \tag{15.35}$$

On a toujours

$$\dot{Y} = k'XY - k_2 Y. \tag{15.36}$$

Le système (15.35), (15.36) n'est plus conservatif et ne possède pas de constante de mouvement.

Il est possible d'étendre les équations de la forme (15.25) à n'importe quel nombre de populations en interaction. L'étude des systèmes correspondants revêt une grande importance pour l'écologie.

Les équations d'autocatalyse de Lotka, analogues à celles de Volterra, conduisent également à un comportement périodique. On voit que les systèmes asymétriques non linéaires sont susceptibles d'un comportement ordonné dans le temps.

On a vu que, pour les processus chimiques,

$$d_X\sigma = \frac{1}{T} \sum_i v_i d\mathcal{A}_i \leqslant 0 \tag{15.37}$$

(cf. (15.3)). Au voisinage de l'état stationnaire

$$T\delta_X\sigma = \sum_i \delta v_i d\,(\delta\mathcal{A}_i) \leqslant 0. \tag{15.38}$$

En développant δv_i en série suivant $\delta\mathcal{A}_i$, on obtient

$$\delta v_i = \sum_j L'_{ij} \delta\mathcal{A}_j, \tag{15.39}$$

où $L'_{ij} = (\partial v_i/\partial\mathcal{A}_j)_0$ sont les dérivées calculées pour l'état stationnaire. D'une façon générale, L'_{ij} peut comporter aussi bien une partie symétrique qu'une partie antisymétrique. Dans les conditions de linéarité (au voisinage de l'équilibre) les coefficients L'_{ij} coïncident avec ceux d'Onsager et leurs parties antisymétriques sont nulles. Cela est également possible loin de l'équilibre. Il vient alors

$$Td_X\sigma = d\Psi \leqslant 0, \tag{15.40}$$

où

$$\Psi = 1/2 \sum_{i,j} L'_{ij} \delta\mathcal{A}_i \delta\mathcal{A}_j \tag{15.41}$$

est le potentiel cinétique. Mais lorsque les parties antisymétriques de L'_{ij} diffèrent de zéro, le potentiel cinétique est inexistant dans le cas général. Soient deux processus chimiques décrits par la matrice antisymétrique L'_{ij}:

$$L'_{11} = L'_{22} = 0, \quad L'_{12} = -L'_{21} = -L'.$$

Alors

$$T\delta_X\sigma = L'\,(\delta\mathcal{A}_2 d\,(\delta\mathcal{A}_1) - \delta\mathcal{A}_1 d\,(\delta\mathcal{A}_2)) \leqslant 0. \tag{15.42}$$

Un tel système tourne autour de l'état stationnaire sans pouvoir l'atteindre. Le diagramme des phases a la forme montrée sur la figure 15.10; le point qui correspond à l'état stationnaire est le centre. En introduisant les coordonnées polaires r et φ sur le plan $\mathcal{A}_1$, $\mathcal{A}_2$, on a

$$Td_X\sigma = -L'r^2d\varphi \leqslant 0. \qquad (15.43)$$

Mais la fonction $\Psi = L'r^2\varphi$ n'est pas un potentiel: à chaque tour elle augmente de $2\pi L'r^2$.

C'est à cette situation que nous avons eu affaire en considérant le système de Lotka-Volterra.

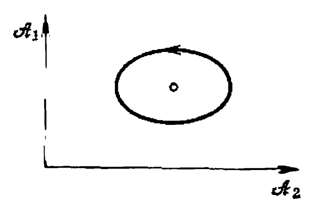


Fig. 15.10. Rotation d'un système chimique antisymétrique autour de l'état stationnaire

§ 15.4. Systèmes autocatalytiques

Le système chimique autocatalytique de Lotka que nous venons d'examiner est oscillatoire, il est caractérisé par un point singulier du type centre. Penchons-nous sur quelques autres systèmes chimiques autocatalytiques ponctuels, plus complexes, tel le « *bruxellateur* »: modèle de Prigogine, Lefever et Nicolis.

On a quatre réactions conjuguées:

$$A \xrightarrow{k_1} X, \qquad (I)$$

$$2X + Y \xrightarrow{k_2} 3X, \qquad (II)$$

$$B + X \xrightarrow{k_3} D + Y, \qquad (III)$$

$$X \xrightarrow{k_4} E. \qquad (IV)$$

La réaction totale est $A + B \to D + E$. La réaction (II) est autocatalytique.

Les équations cinétiques pour les substances intermédiaires X et Y sont de la forme

$$\begin{aligned} \dot{X} &= k_1A + k_2X^2Y - k_3BX - k_4X, \\ \dot{Y} &= -k_2X^2Y + k_3BX. \end{aligned} \qquad (15.44)$$

Introduisons les variables sans dimension

$$\tau = k_4t, \quad x = X\sqrt{k_2/k_4}, \quad y = Y\sqrt{k_2/k_4},$$
$$a = A\,(k_1/k_4)\sqrt{k_2/k_4}, \quad b = Bk_3/k_4.$$

On obtient les équations

$$\begin{aligned} dx/d\tau &= a + x^2y - bx - x, \\ dy/d\tau &= -x^2y + bx. \end{aligned} \qquad (15.45)$$

On a les mêmes équations, lorsque $k_1 = k_2 = k_3 = k_4 = 1$ et $\tau = t$. On trouve la solution stationnaire en annulant les premiers membres des équations (15.45). On tire de la seconde équation $x_0^2y_0 = bx_0$; en le substituant dans la première équation, on obtient $x_0 = a$ et, par conséquent, $y_0 = b/a$; cette solution est

unique. Maintenant nous allons analyser sa stabilité. On recherche les solutions de (15.45) sous la forme

$$x = a + \alpha e^{\lambda\tau}, \quad y = b/a + \beta e^{\lambda\tau}, \tag{15.46}$$

à condition que $|\alpha|$, $|\beta| \ll a$, b/a. Dans l'approximation linéaire il vient

$$\alpha\lambda = (b - 1)\,\alpha + a^2\beta, \quad \beta\lambda = -b\alpha - a^2\beta$$

et on a l'équation caractéristique

$$\lambda^2 + (a^2 + 1 - b)\,\lambda + a^2 = 0, \tag{15.47}$$

avec, pour racines,

$$\lambda_{1,2} = -{}^1/_2\,(a^2+1-b) \pm 1/2\,\sqrt{(a^2+1-b)^2 - 4a^2}. \tag{15.48}$$

Etant donné que $\lambda_1\lambda_2 = a^2 > 0$, les racines sont soit réelles et ont les signes identiques, soit complexes conjuguées. Il s'agit donc, dans ce cas, des situations

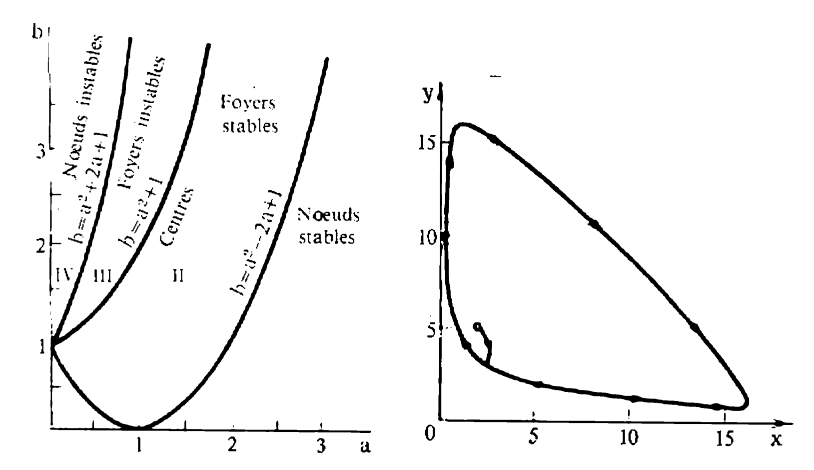


Fig. 15.11. Régions sur le plan a, b

Fig. 15.12. Trajectoire de phase du bruxellateur

1, 2 ou 5, 6 de la classification donnée à la page 512. Le point singulier correspondant à l'état stationnaire est un nœud ou un foyer stable ou instable. Le système devient instable, lorsque le paramètre b passe par la valeur satisfaisant à la condition

$$p = a^2 + 1 - b = 0.$$

La valeur $b_{cr} = a^2 + 1$ est critique, elle correspond à une bifurcation. La parabole $b = a^2 + 1$ sépare, sur le plan a, b, les régions stables des régions instables: lorsque $b > b_{cr} = a^2 + 1$, le système possède des nœuds ou des foyers instables; dans le cas où $b < b_{cr} = a^2 + 1$, ses nœuds ou foyers sont stables. A la parabole $b = a^2 + 1$ correspondent les centres: pour cette valeur $\lambda_{1,2} = \pm ai$ et le système présente des oscillations non amorties. Les courbes qui séparent la région des foyers de celle des nœuds sont déduites de la condition de nullité de la racine carrée dans (15.48). Il vient

$$b = (a \pm 1)^2.$$

Le plan a, b se trouve ainsi divisé en quatre régions (fig. 15.11). Dans la région I les écarts à l'état stationnaire décroissent de façon exponentielle; dans

la région *IV* ils croissent de la même manière. La région *II* est celle d'oscillations amorties et la région *III* correspond à des auto-oscillations instables. L'accroissement exponentiel dans la région *IV* s'interrompt à grande amplitude et se répète périodiquement : c'est le cycle limite qui apparaît. La trajectoire de phase du bruxellateur pour $a = 2$ et $b = 10$, i.e. dans la région *IV*, est montrée sur la figure 15.12. La forme du cycle limite est quasi triangulaire, les auto-oscillations sont aiguës, avec relaxation (fig. 15.13). Soulignons que le cycle limite n'est pas observable, lorsqu'on examine les équations linéarisées : il n'apparaît que quand on est suffisamment loin du point singulier. Les résultats des figures 15.12 et 15.13 ont été obtenus par intégration numérique d'équations non linéaires.

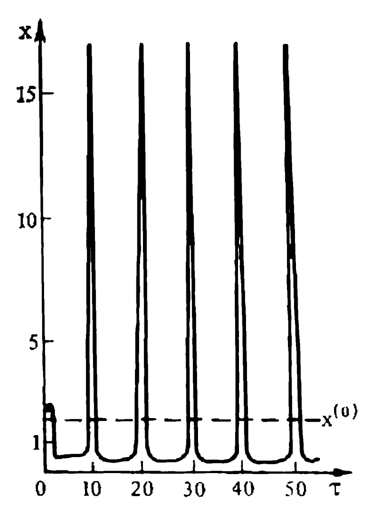


Fig. 15.13. Auto-oscillations du bruxellateur

Le « bruxellateur » est différent du système de Lotka-Volterra. Ce dernier possède un nombre infini de mouvements périodiques possibles, les transitions des uns aux autres étant assurées par variation des conditions initiales et des paramètres. Le « bruxellateur » est, par contre, un système non conservatif qui atteint un régime cohérent d'auto-oscillations ordonné dans le temps indépendamment des conditions initiales, si les paramètres du système correspondent à la région des nœuds instables.

Ainsi, les systèmes autocatalytiques ponctuels, représentés ici par le « bruxellateur », sont aptes à passer dans un état ordonné dans le temps.

Parlons maintenant des *systèmes autocatalytiques distribués*. Comme nous le verrons, ces systèmes peuvent former, loin de l'équilibre, des structures dissipatives ordonnées dans l'espace. La distribution du système dans l'espace est due à la diffusion.

C'est Turing (1952) qui aborda le premier le problème de la stabilité par rapport à la diffusion, dans son travail, dont le titre est significatif : « On the Chemical Basis of Morphogenesis ». Ce travail, ainsi que les recherches qu'il a inspirées, se proposent de donner la forme de modèles aux phénomènes biologiques déterminant le développement ontogénétique (v. Chapitre 17).

Complétons les équations (15.45) par les termes décrivant une diffusion unidimensionnelle le long de la coordonnée r. On a

$$\begin{aligned} \frac{\partial x}{\partial \tau} &= a + x^2 y - bx - x + D_x \frac{\partial^2 x}{\partial r^2}, \\ \frac{\partial y}{\partial \tau} &= -x^2 y + bx + D_y \frac{\partial^2 y}{\partial r^2}. \end{aligned} \tag{15.49}$$

Les substances x et y (i.e. X et Y) sont caractérisées par deux constantes différentes de diffusion unidimensionnelle D_x et D_y.

On cherche la solution du système (15.49) sous forme d'ondes de concentration (cf. (15.46)) :

$$\begin{aligned} x &= x_0 + \alpha \exp(\lambda\tau + ir/l), \\ y &= y_0 + \beta \exp(\lambda\tau + ir/l). \end{aligned} \tag{15.50}$$

Ici l est la longueur d'onde caractérisant l'inhomogénéité spatiale, $\alpha \ll x_0$. $\beta \ll y_0$, $x_0 = a$, $y_0 = b/a$. En portant (15.50) dans (15.49), on trouve l'équation caractéristique

$$\lambda^2 + (a^2 + 1 - b + \xi + \eta)\,\lambda + a^2(1 + \xi) + (1 - b)\,\eta + \xi\eta = 0, \tag{15.51}$$

où $\xi = D_x/l$, $\eta = D_y/l$. Lorsque $l \to \infty$, le système devient homogène et l'équation (15.51) coïncide avec (15.48).

L'équation (15.51) fournit deux types d'instabilités. Quand on passe au premier type, le facteur auprès de λ est égal à zéro et la somme des termes libres est positive :

$$b'_{cr} = 1 + a^2 + \xi + \eta.$$

La deuxième transition correspond à la nullité de la somme des termes libres :

$$b''_{cr} = (a^2 + \eta)(1 + \xi)/\eta.$$

Dans le deuxième cas une des racines de (15.51) s'annule. Les solutions sont donc stables dans la région

$$b'_{cr} < b < b''_{cr}.$$

Les conditions d'instabilités sont de la forme

$$b > b''_{cr} \quad \text{et} \quad b < b'_{cr}.$$

La longueur d'onde l pour laquelle b'_{cr} est minimal est $l \to \infty$, ξ, $\eta \to 0$ et $\min b'_{cr} = 1 + a^2$. On trouve le minimum de b''_{cr} en annulant la dérivée de b''_{cr} par rapport à l. On obtient $l^2_{cr} = (D_x D_y)^{1/2}/a^{-1}$ et $\min b''_{cr} = [1 + a\,(D_x/D_y)^{1/2}]^2$. L'instabilité apparaît, lorsque b atteint la plus petite de ces deux valeurs. Si $D_x = D_y$, on a

$$\min b'_{cr} = 1 + a^2 < \min b''_{cr} = (1 + a)^2$$

et le cycle limite se réalise. Toutefois, lorsque les valeurs de D_x/D_y sont suffisamment petites, $\min b'_{cr} > \min b''_{cr}$ et on voit apparaître une inhomogénéité spatiale : la symétrie se trouve violée. Pour un b plus grand que b_{cr}, les fluctuations avec un l voisin de l_{cr} s'accentuent et le système quitte l'état stationnaire pour se stabiliser dans un nouvel état stationnaire qui est déjà inhomogène dans l'espace. La figure 15.14 montre la distribution inhomogène stationnaire calculée de X et Y dans l'espace pour le système (15.49), qui apparaît hors des limites de l'instabilité rompant la symétrie.

En considérant le bruxellateur ponctuel et distribué, nous avons négligé les réactions inverses, ce qui nous a éloignés de l'équilibre. La structure spatiale représentée sur la figure 15.15 est stabilisée par le flux d'énergie et de matière traversant le système ouvert. Cette structure dissipative se caractérise par une entropie moins élevée que celle du système homogène de départ : ainsi s'est réalisé l'*ordre par fluctuations*.

Certainement, un système réel n'est pas homogène à conditions aux limites constantes. Les concentrations mêmes (sans dimension) a et b qui figurent en

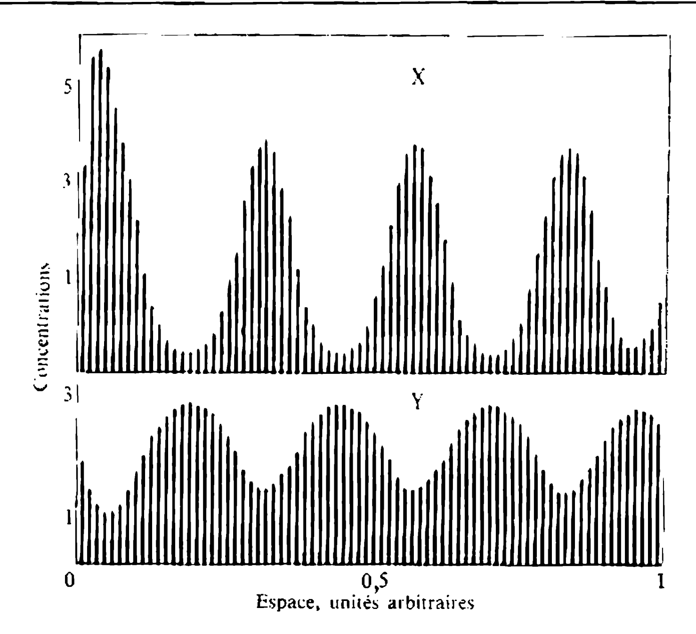


Fig. 15.14. Distribution stationnaire de la matière par suite d'une instabilité rompant la symétrie. Les concentrations X, Y aux limites de la région sont maintenues égales aux valeurs stationnaires homogènes $X = 2$, $Y = 2{,}62$. Les valeurs des paramètres sont les suivantes:

$a = 2{,}00$, $b = 5{,}24$, $D_x = 1{,}6 \cdot 10^{-3}$, $D_y = 8 \cdot 10^{-3}$, soit min $b'_{cr} \approx 5$, min $b''_{cr} \approx 7{,}7$

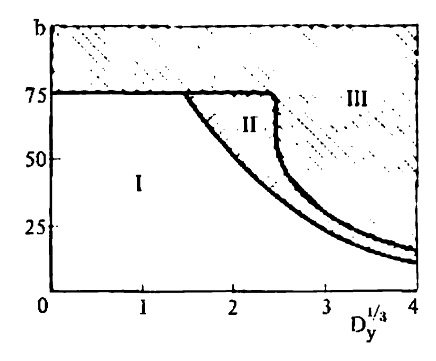


Fig. 15.15. Propriétés du système autocatalytique considéré pour a, D_a, D_x définis et $D_b \to \infty$ en fonction de b et de D_y (en unités arbitraires):

I — la région de l'état stationnaire stable, *II* — la région de l'accroissement monotone des fluctuations, *III* — la région des fluctuations amplifiées

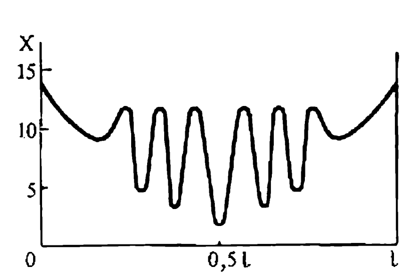


Fig. 15.16. Structure dissipative stationnaire localisée qui apparaît dans la région *II* du diagramme précédent

qualité de paramètres, dépendent de r et t. Considérons le même système (15.49), en posant b constant par souci de simplicité, mais en tenant compte des variations de a:

$$\frac{\partial a(r,\ t)}{\partial t} = -a(r,\ t) + D_a \frac{\partial^2 a(r,\ t)}{\partial r^2}. \tag{15.52}$$

On cherche la solution commune des équations (15.49) et (15.52) satisfaisant aux conditions aux limites:

$$a(0) = a(L) = \bar{a}, \quad x(0) = x(L) = \bar{x},$$

$$y(0) = y(L) = \bar{y} \quad (0 \leqslant r \leqslant L).$$

Les propriétés de cette solution sont les suivantes.

1. A proximité de l'équilibre il n'existe qu'un seul état stationnaire stable.

2. Loin de l'équilibre on peut voir se réaliser les diverses situations montrées sur le diagramme (fig. 15.15).

3. Dans la région II du diagramme la branche thermodynamique (statique) devient instable par rapport aux fluctuations de la composition chimique. Au-delà du seuil de b les écarts initiaux à l'état stationnaire s'accentuent et le système passe, au bout du compte, dans un nouvel état stationnaire qui correspond à une distribution inhomogène de x et y (fig. 15.16).

4. Lorsque $D_b \gg D_a \gg D_y \approx D_x$, la branche thermodynamique est instable, le système passe dans un état spatialement inhomogène qui dépend du temps. On voit apparaître des *ondes de concentration* qui se propagent dans le volume réactionnel et qui sont réfléchies par les limites du système. La concentration oscille en tout point.

5. Les valeurs de D_a étant finies, les structures décrites sont localisées à l'intérieur du volume réactionnel. Leurs limites et leurs périodes sont déterminées par les valeurs des quantités a, b, D_x, etc., indépendamment des conditions initiales. Lorsque D_a, $D_b \to \infty$ ces structures occupent tout le volume. Quand D_x, D_y sont très grands devant les vitesses chimiques dans la région III (fig. 15.15), la dépendance spatiale disparaît: le système oscille partout avec une même phase. On est en présence d'un cycle limite, le mouvement périodique est stable.

Les oscillations et les ondes de concentration seront examinées plus loin, au § 16.1.

§ 15.5. Transitions de phase

Lorsque l'ordre statique surgit du désordre dans des conditions d'équilibre thermodynamique, cela se produit toujours par transition de phase. Dans la région de la transition le système est instable. Lors d'une transition de premier ordre (telle la transformation gaz-liquide) les principales grandeurs thermodynamiques — enthalpie, entropie, volume — subissent une discontinuité. Dans une transition de second ordre l'état du système varie de façon continue, mais la symétrie change par saut. Ce ne sont plus les grandeurs thermodynamiques principales qui subissent une discontinuité, mais leurs dérivées: capacité calorifique, compressibilité, coefficient de dilatation. Un exemple: transition paramagnétique-ferromagnétique au point de Curie.

Les points des transitions de phase sont des points singuliers, où l'on voit changer le caractère de la dépendance fonctionnelle du potentiel chimique avec la température et la pression.

Comme nous l'avons vu, les transitions accompagnées de l'apparition d'un ordre spatial et/ou temporel loin de l'équilibre se produisent également par sauts, étant liées aux instabilités des états initiaux. La transition des atomes rayonnants à la radiation cohérente (laser) pour la valeur critique du paramètre de pompage lumineux a toutes les caractéristiques d'une transition de phase.

Considérons un exemple physique plus simple: un circuit électrique avec une diode (fig. 15.17). Sur le graphique la droite discontinue représente le courant traversant la résistance en fonction de la tension appliquée à la diode; le trait continu est la caractéristique tension-courant de la diode. Dans les états stationnaires les courants traversant la résistance et la diode doivent être égaux: à cette situation correspondent les points A, B, C. Pour définir la stabilité de ces états il faut, comme toujours, linéariser à proximité des états considérés les équations décrivant le circuit. Le circuit linéarisé comporte une capacité mise en parallèle avec la résistance linéaire R et la résistance différentielle $d\varphi/dI$ de la diode. Si ces deux résistances parallèles sont positives, le circuit est stable. Cela se vérifie pour les points A et C, mais non pas pour B. Le système possède deux états stationnaires stables différents A et C, il est bistable; le passage d'un de ces états à l'autre a le caractère d'une transition de phase. C'est un système à écoulement hors d'équilibre.

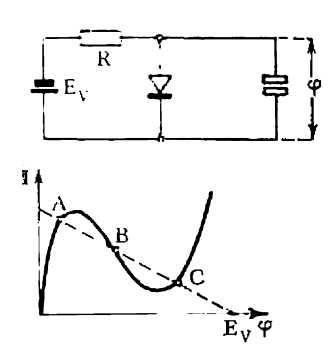


Fig. 15.17. Circuit électrique à diode et sa caractéristique tension-courant

Passons maintenant aux réactions chimiques autocatalytiques (Schlögl, 1972). Nous avons vu que les processus chimiques de ce genre peuvent faire naître un ordre dynamique.

Considérons les réactions

$$A+2X \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} 3X, \tag{I}$$

$$B+X \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C. \tag{II}$$

La réaction totale s'écrit A + B $\rightleftarrows$ C. Les vitesses des réactions sont données par

$$v_1 = k_1AX^2 - k_{-1}X^3, \; v_2 = k_2BX - k_{-2}C. \tag{15.53}$$

Posons pour simplifier $k_{-1} = 1$, $k_1A = 3$ et notons $k_2B = f$, $k_{-2}C = g$. La vitesse de variation de la concentration X s'écrira

$$\dot{X} = v_1 - v_2 = -X^3 + 3X^2 - fX + g. \tag{15.54}$$

Dans les états stationnaires $\dot{X} = 0$, soit

$$g = X^3 - 3X^2 + fX. \quad (15.55)$$

Les courbes $g(X)$ qui représentent cette dépendance sont données sur la figure 15.18. L'équation $\dot{X} = 0$ a trois racines. Ces racines coïncident pour la valeur critique de $f = f_{cr}$:

$$g = 1, \; f_{cr} = 3, \; X_{cr} = 1.$$

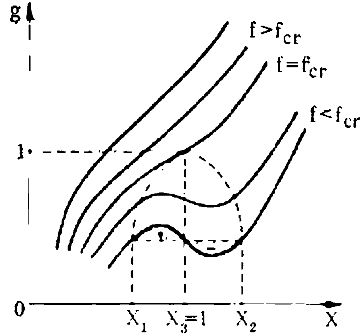


Fig. 15.18. Transition de phase de premier ordre dans une réaction chimique autocatalytique

Trois valeurs positives et réelles différentes des racines $X_2 > X_3 > X_1$ ne sont possibles que lorsque $f < 3$. Les solutions X_1, X_2 sont stables, la racine instable X_3 est située sur la branche décroissante de $g(X)$. L'image obtenue ressemble à celle que l'on a observée pour le circuit à diode. La ressemblance au diagramme d'état gaz-liquide est encore plus instructive. Dans ce cas la concentration X joue le rôle de la densité V^{-1}, la quantité g correspond à la pression p et la quantité f à la température RT. Il vient

$$g = \frac{f}{V} - \frac{3}{V^2} + \frac{1}{V^3}. \quad (15.55a)$$

L'équation de Van der Waals est de la forme

$$p = \frac{RT}{V-b} - \frac{a}{V^2}, \quad (15.56)$$

ou, en développant en série suivant b (forme virielle),

$$p = \frac{RT}{V} + \frac{bRT-a}{V^2} + \frac{b^2RT}{V^3} + \ldots \quad (15.57)$$

On obtient l'analogie complète pour l'équation d'état du viriel

$$p = \frac{RT}{V} - \frac{a_1}{V^2} + \frac{a_2}{V^3}, \quad (15.58)$$

où les coefficients a_1 et a_2 ne dépendent pas de la température.

Le système autocatalytique considéré présente donc, à $f < f_{cr}$, une transition entre deux états stationnaires stables X_1 et X_2, analogue à une transition de phase de premier ordre. Deux états compétitifs X_1 et X_2 correspondent aux conditions extérieures définies par f et g. Cette transition n'implique aucune perturbation de la symétrie (le gaz et le liquide ont la même symétrie). On peut démontrer que la condition de Maxwell — égalité des aires + et — sur la figure 15.18 — est remplie.

34—01676

Si, parallèlement à la réaction chimique, il y a diffusion de la substance X (système distribué), il vient, à valeurs constantes de A, B et C,

$$\dot{X} = g(X) + D\frac{\partial^2 X}{\partial r^2}, \tag{15.59}$$

$g(X)$ pouvant être représenté sous la forme

$$g(X) = \frac{\partial}{\partial X}\Phi(X) \equiv \frac{\partial}{\partial X}\left(\frac{1}{4}X^4 - X^3 + \frac{1}{2}fX^2\right), \tag{15.60}$$

où $\Phi(X)$ joue le rôle d'un potentiel. Les états stationnaires satisfont à la condition $\dot{X} = 0$, i.e. à l'équation

$$D\frac{\partial^2 X}{\partial r^2} = -\frac{\partial \Phi}{\partial X}. \tag{15.61}$$

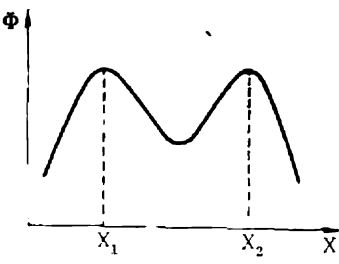


Fig. 15.19. Coexistence des phases X_1 et X_2

Cette équation ressemble à celle qui décrit le mouvement d'un point matériel dans un champ à potentiel, si D représente la « masse », r le « temps », X la « coordonnée ». Il existe un état stationnaire où deux « phases » X_1, X_2 coexistent et où $X \to X_1$, lorsque $r \to \infty$ et $X \to X_2$, lorsque $r \to -\infty$; à X_1 et X_2 correspondent les maximums relatifs de $\Phi(X)$. A l'état stationnaire il y a déplacement de la « masse » D d'un des maximums de $\Phi(X)$ (où cette « masse » était au repos) vers l'autre maximum où elle atteint également un état de repos. La chose n'est possible que lorsque les valeurs de Φ sont égales dans les deux points (fig. 15.19):

$$\Phi(X_1) = \Phi(X_2). \tag{15.62}$$

C'est la condition de coexistence de deux « phases » qui fixe la valeur de g. On peut démontrer que cette condition conduit à

$$g = f - 2, \quad X_{1,2} = 1 \mp (3 - f)^{1/2}, \quad X_3 = 1. \tag{15.63}$$

En plus des transitions de phase de premier ordre, les réactions autocatalytiques non linéaires peuvent conduire à des transitions non équilibrées telles que les transitions de phase de second ordre. Soient deux réactions

$$A + X \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} 2X, \tag{I}$$

$$B + X \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C. \tag{II}$$

Leurs vitesses sont égales à

$$v_1 = k_1 AX - k_{-1}X^2, \quad v_2 = k_2 BX - k_{-2}C. \tag{15.64}$$

Posons $k_1 A = 1$, $k_{-1} = 1$, $k_2 B = f$, $k_{-2}C = g$. Alors

$$\dot{X} = v_1 - v_2 = -X^2 + (1 - f)X + g \equiv \varphi(X) + g; \tag{15.65}$$

$\dot{X} > 0$ à petits X et $\dot{X} < 0$ à grands X. Par conséquent, l'état stationnaire correspondant à $\dot{X} = 0$ est stable. Dans cet état

$$g = X^2 - (1 - f)\, X \equiv -\varphi(X). \tag{15.66}$$

Lorsque $g = 0$, on a

$$X = \begin{cases} 1 - f & \text{pour } f < 1 \\ 0 & \text{pour } f \geqslant 1 \end{cases} \tag{15.67}$$

Un tel comportement de la quantité X est caractéristique d'une transition de phase de second ordre, telle que la transition de l'état ferromagnétique à l'état paramagnétique. Dans cette analogie X joue le rôle de paramètre d'ordre (d'aimantation), g représentant l'intensité du champ magnétique et f la température. La valeur de $f = f_{cr} = 1$ correspond au point de Curie. Lorsque $f < f_{cr}$, la symétrie se trouve perturbée. C'est a point critique que les petites fluctuations prennent des valeurs macroscopiques. La figure 15.20 montre les courbes $X(f)$ pour quelques g différents.

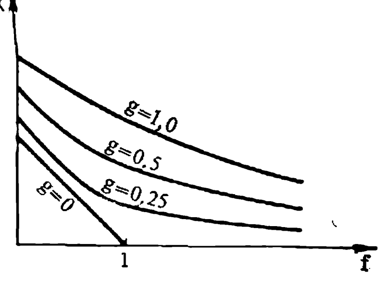


Fig. 15.20. Transition de phase de second ordre dans une réaction chimique autocatalytique

Si le comportement d'un système chimique servant de modèle est analogue à une transition de phase, c'est que ce système possède des propriétés collectives. Les transitions se font par « tout ou rien» Elles se produisent dans les systèmes triggers, étant le résultat de petites fluctuations.

Divers phénomènes biologiques ont le caractère dynamique des transitions de phase. Le développement de la théorie des transitions de phase hors d'équilibre en tant que mécanismes des processus biologiques paraît prometteur. Quelques résultats intéressants ont déjà été obtenus. Le travail de Tchaïkovski et Ebeling (1977) porte sur les transitions de ce type dans les systèmes de réactions enzymatiques en présence de diffusion et d'inhibition par le substrat. Ils ont montré qu'il est possible de réaliser une séparation spatiale des phases correspondant aux complexes de l'enzyme avec quelques molécules du substrat. Bélintsev et Volkenstein (1977) ont démontré que l'apparition d'une nouvelle espèce par séparation géographique d'une population est analogue à une transition de phase. Des phénomènes analogues se produisent dans une série de processus membranaires, particulièrement, lors de la génération de l'influx nerveux (v. §§ 11.3, 16.5).

§ 15.6. Processus stochastiques

En décrivant les processus dynamiques nous avons utilisé des équations différentielles. Mais, comme nous l'avons déjà mentionné (p. 515), lorsque le nombre de molécules ou d'individus est limité, on est obligé de prendre en considération, de façon directe, le caractère discret de leur apparition et destruction : des actes de « naissance » et de « mort ». Une « demi-molécule » ou un « demi-lièvre » ne peuvent ni naître, ni disparaître. Les systèmes discrets sont décrits par les équations stochastiques fondées sur la théorie des probabilités. Nous nous limiterons à considérer deux exemples.

Soit un système de réactions chimiques (déjà examiné à la page 530) :

$$A + X \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} 2X, \qquad (I)$$

$$B + X \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} C. \qquad (II)$$

En posant que les molécules « naissent » et « meurent », nous déduirons l'*équation cinétique principale* du système ; dans ce cas les variables ne seront plus les concentrations, mais les nombres de molécules. N désignera le nombre de molécules X ; la distribution des probabilités qui varie dans le temps est exprimée par la fonction $P(N, t)$. Dans chacune des réactions N change d'une unité. Nous examinerons toutes les transitions. Commençons par la réaction (II).

1. Transition $N \to N + 1$: « naissance » d'une molécule X. Le nombre de ces transitions par unité de temps est égal à $P(N, t)\, W(N + 1, N)$, où $W(N + 1, N)$ est la probabilité de la transition égale à

$$W(N + 1, N) = k_{-2}CV,$$

où C est la concentration des molécules du corps C, i.e. leur nombre dans l'unité de volume, V le volume. CV est le nombre de molécules réagissantes de C.

2. Transition $N - 1 \to N$: également « naissance » de X. Le nombre de ces transitions par seconde s'écrit $P(N - 1, t)\, k_{-2}CV$. Etant donné que la « population » du niveau N diminue en même temps par suite du processus (I), on obtient la vitesse totale de transition dans la réaction $C \to B + X$:

$$[P(N - 1, t) - P(N, t)]\, k_{-2}\, CV.$$

Passons maintenant à la réaction $B + X \to C$. Ici les molécules de X « meurent », le nombre N dimunuant d'une unité. On y a les transitions $N + 1 \to N$ et $N \to N - 1$. La vitesse totale s'écrit

$$[P(N + 1, t)(N + 1) - P(N, t)\, N]\, k_2 B,$$

B étant la concentration en B. On trouve de façon analogue les vitesses pour les réactions (I) directe et inverse. Dans la réaction $A + X \to 2X$ les molécules de X « naissent » avec la vitesse

$$[P(N - 1, t)(N - 1) - P(N, t)\, N]\, k_1 A,$$

alors qu'elles « meurent » dans la réaction $2X \to A + X$ avec la vitesse

$$[P(N + 1, t)(N + 1)\, N - P(N, t)\, N(N - 1)]\, k_{-1}/V.$$

Maintenant nous pouvons écrire l'équation cinétique. Elle a la forme suivante:

$$\dot{P}(N,\ t) = P(N-1,\ t)\, W(N,\ N-1) + P(N+1,\ t)\, W(N,\ N+1) - \\ - P(N,\ t)\,[W(N+1,\ N) + W(N-1,\ N)], \qquad (15.68)$$

où

$$\begin{aligned} W(N,\ N-1) &= \left(k_1 A\, \frac{N-1}{V} + k_{-2}C\right) V, \\ W(N,\ \Lambda+1) &= \left[k_{-1}\, \frac{(N+1)\,N}{V^2} + k_2 B\, \frac{N+1}{V}\right] V. \end{aligned} \qquad (15.69)$$

Il y a là une difficulté : la solution stationnaire de (15.68) est $P(0) = 1$, $P(N) = 0$, lorsque $N \neq 0$. Il faut donc introduire un troisième processus de naissance spontanée des molécules de X à partir des molécules de A

$$\mathrm{A} \xrightarrow{k_1} \mathrm{X}. \qquad \text{(III)}$$

Les formules (15.69) subissent alors une modification:

$$\begin{aligned} W(N,\ N-1) &= \left(k_1 A\, \frac{N}{V} + k_{-2}C\right) V, \\ W(N,\ N+1) &= \left[k_{-1} \frac{(N+1)\,N}{V^2} + k_{-2} B\, \frac{N+1}{V}\right] V. \end{aligned} \qquad (15.70)$$

La solution de l'équation (15.68) est de la forme

$$P(N) = P(0) \prod_{n=0}^{N-1} \frac{W(n+1,\ n)}{W(n,\ n+1)}. \qquad (15.71)$$

Pour pouvoir passer à l'équation continue déterministe (15.64), (15.65), il nous faut trouver les valeurs moyennes de N et des probabilités W. On a

$$\langle N \rangle = \sum_{N=0}^{\infty} N P(N,\ t), \qquad (15.72)$$

$$\langle W(N \pm 1,\ N) \rangle = \sum_{N=0}^{\infty} W(N \pm 1,\ N)\, P(N,\ t) \qquad (15.73)$$

et

$$\frac{d}{dt} \langle N \rangle = \langle W(N+1,\ N) \rangle - \langle W(N-1,\ N) \rangle. \qquad (15.74)$$

A l'aide de (15.69) on trouve

$$\frac{d}{dt}\langle N \rangle = \\ = \left[k_2 A\, \frac{\langle N+1 \rangle}{V} + k_{-2}C - k_{-1}\, \frac{\langle N\,(N+1) \rangle}{V^2} - k_2 B\, \frac{\langle N \rangle}{V}\right] V. \qquad (15.75)$$

Cette équation coïncide avec l'équation continue dans le cas des grands N, lorsqu'on peut négliger l'unité devant N et remplacer $\langle N \rangle / V$ par X. Il vient

$$\dot{X} = k_1 A X + k_{-2}C - k_{-1}X^2 - k_2 B X = v_1 - v_2,$$

ce qui coïncide avec (15.64). La substitution de la concentration à $\langle N \rangle / V$ est tout à fait stricte, si P est la distribution de Poisson. La condition de cette distribution est une balance détaillée pour les distributions dans chacune des réactions (I) et (II) prises isolément. Cela est toujours ainsi dans le cas de l'équilibre thermodynamique, mais loin de cet équilibre la situation peut être différente. Le problème de la relation entre les équations déterministes et stochastiques demande donc un examen attentif dans chaque cas particulier.

Comme second exemple nous prendrons le modèle « prédateur-proie » de Volterra (§ 15.3). M sera le nombre de lièvres, N celui de lynx. La reproduction des lièvres (les transitions $M \to M + 1$) est décrite par la probabilité

$$W(M + 1, N; M, N) = k_1 M.$$

La mort des lynx est décrite par la probabilité des transitions $N \to N - 1$:

$$W(M, N - 1; M, N) = k_2 N.$$

Lors des rencontres des lynx avec les lièvres ont lieu les transitions $M \to M - 1$, $N \to N + 1$ avec les probabilités

$$W(M - 1, N + 1; M, N) = kMN.$$

Nous avons posé $k' = k$ (v. p. 518). L'équation cinétique fondamentale est de la forme

$$\dot{P}(M, N; t) = k_1 (M - 1) P(M - 1, N; t) + k_2 (N + 1) P(M, N + 1; t) + k(M + 1)(N - 1) P(M + 1, N - 1; t) - (k_1 M + k_2 N + kMN) P(M, N; t). \quad (15.76)$$

Certainement, on impose la condition $P = 0$, lorsque les valeurs de M et N sont négatives. La seule solution stationnaire, $\dot{P} = 0$, correspond à $P(0, 0) = 1$ et tous les autres à $P = 0$. Dit autrement, les deux espèces sont vouées à la disparition. La confrontation aux équations différentielles de Lotka-Volterra explique le sens de ce résultat. Nous avons vu que les trajectoires de phase fermées embrassant le centre peuvent varier, quelles que soient les fluctuations: le système passe d'une trajectoire sur une autre par suite des changements des conditions initiales. Si les lièvres ont disparu par accident, les lynx ne pourront survivre et $M = N = 0$ est l'unique état stationnaire. Dans la nature les lièvres peuvent échapper aux lynx ou s'enfuir vers d'autres régions.

Ainsi, l'analyse de l'équation stochastique fournit, dans ce cas, de nouveaux résultats intéressants.

§ 15.7. Dynamique et régulation

Le fait de présenter un comportement collectif ordonné dans le temps et dans l'espace et résultant d'une transition analogue à une transition de phase implique l'existence, chez les systèmes ouverts, de possibilités régulatrices particulières. La localisation spatiale de la matière (v. p. 527) constitue le mécanisme probable de la stabilisation d'une structure dissipative par rapport aux variations de l'environnement chimique.

Les structures localisées ont pour caractéristique la production de grandes quantités d'une substance déterminée dans une région li-

mitée de l'espace. Le système possède donc des propriétés régulatrices. Les ondes de concentration (p. 527) sont le mécanisme qui assure la propagation et la transmission de l'information sous forme de signaux chimiques, moléculaires, tandis que les structures localisées stationnaires stockent l'information.

Macromolécules biologiques, structures supramoléculaires, organites cellulaires, cellules, organismes, populations sont des systèmes complexes: ensembles d'éléments en interaction. L'étude des phénomènes vitaux part de l'examen de ces interactions. Parallèlement, le traitement physique d'un système complexe ne peut ignorer l'étude de ses éléments constitutifs pris isolément, jusqu'au niveau moléculaire de l'organisation. Les interactions mêmes sont déterminées par la nature de ces éléments. Respectivement, on a affaire à l'enzyme et au gène, à l'axone et à la myofibrille, à la mitochondrie et au chloroplaste. Ces éléments de systèmes plus complexes sont, à leur tour, des systèmes complexes. Il faut que l'analyse des phénomènes vitaux à tous les niveaux d'organisation soit conforme aux concepts de la *théorie générale des systèmes.*

Les interactions spécifiques dans un système biologique assurent la régulation de son comportement, le maintien à un niveau constant des paramètres vitaux d'un système fonctionnant en régime stationnaire et l'auto-organisation dirigée d'un organisme en développement. La biologie utilise depuis longtemps déjà la notion d'*homéostase* qui désigne l'état stationnaire du milieu intérieur. Or, selon Waddington, il faut plutôt parler non pas d'homéostase,mais d'*homéorhèse*: les phénomènes vitaux ont un caractère dynamique et la stabilisation des flux est essentielle. L'homéorhèse implique la présence d'un état stationnaire ou d'une trajectoire fermée stationnaire sur le portrait de phase du système ouvert, en particulier, d'un cycle limite. L'homéorhèse est maintenue par les processus de régulation qui rétablissent les trajectoires de phase en cas d'écarts provoqués par les changements des conditions.

En termes de la théorie de la régulation, tout système ouvert est caractérisé par la présence d'un signal d'entrée et d'un signal de sortie: action sur le système et sa réaction. La loi du comportement du système définit la dépendance de la grandeur de sortie de l'effet d'entrée. Les problèmes de la théorie des systèmes sous leur forme générale consistent à combiner deux facteurs connus pour trouver le troisième. Ces trois facteurs sont grandeur d'entrée, loi du comportement et grandeur de sortie. Les problèmes principaux de la biophysique se ramènent à déterminer la structure et les lois du comportement de la « *boîte noire* » qu'est le système biologique. L'enzyme ou la cellule ou l'organisme sont des « boîtes noires ». L'ingénieur crée la « *boîte blanche* »: machine qui transforme les signaux d'entrée en signaux de sortie en conformité avec l'objectif à atteindre. En biologie, les « boîtes » sont créées par la nature et la tâche

de la physique consiste à étudier leur structure interne et leur fonctionnalité.

La régulation qui assure le maintien de l'homéorhèse ou les réactions optimales aux actions extérieures, résulte de l'interaction entre les signaux d'entrée et de sortie, i.e. de la *rétroaction*. Dans le cas le plus simple la régulation maintient la grandeur de sortie à un niveau constant (il peut s'agir, par exemple, de la température d'un thermostat de laboratoire). Le système élémentaire à régulation comporte un dispositif de commande soumis à l'action du signal de sortie et l'objet de commande qui envoie ce signal (p. 487).

Les interactions qu'on observe dans un système biologique sont fortes (chimiques) ou faibles (intermoléculaires) (v. § 2.11). En règle générale, les réactions chimiques, ainsi que les interactions coopératives faibles, sont non linéaires. La non-linéarité est nécessaire pour réaliser le système de commande. La coopérativité implique toujours la non-linéarité de la réponse du système au signal d'entrée.

Comme nous l'avons constaté, le comportement des systèmes non linéaires est très divers. L'existence d'états stationnaires multiples permet au système de passer d'un régime à un autre même sous une action faible. Ainsi, les systèmes non linéaires possèdent les possibilités de régulation.

L'outillage mathématique de la théorie des systèmes de commande est celui des équations différentielles. Une telle équation décrit la relation entre les signaux d'entrée et de sortie. La méthode des fonctions de transfert, fondée sur l'application de la transformation de Laplace, permet d'obtenir une description phénoménologique des systèmes de commande. La technique des portraits de phase décrite plus haut, qui rend possible une analyse directe des problèmes de stabilité, s'avère efficace dans ce cas.

La physiologie théorique a pour base l'étude de l'organisme considéré en tant qu'un système à régler par application de méthodes physico-mathématiques. Au § 16.6 on examinera à titre d'exemple la fibrillation cardiaque. La théorie permet d'établir les paramètres, dont dépend le comportement du système, et d'indiquer, comment influer sur ces paramètres. Toute une série de problèmes physiologiques sont, au fond, de la même nature (tel le problème de l'immunité, § 17.8). Il s'agit de découvrir l'essence physique des phénomènes de régulation, d'établir, de quoi dépend la régulation et de trouver ainsi les causes des divers troubles. Dans ce sens la physique sert de fondement à la physiologie.

CHAPITRE 16

PROCESSUS PÉRIODIQUES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES

§ 16.1. Introduction

Dans le chapitre précédent nous avons parlé des processus auto-oscillants et auto-ondulatoires caractéristiques des systèmes ouverts loin de l'équilibre. Le seul fait expérimental que nous avons cité jusqu'à présent était la variation périodique des populations des lièvres et des lynx, conforme au modèle de Volterra (p. 520). Or, de tels faits biologiques sont bien nombreux. A tous les niveaux d'organisation, du niveau macromoléculaire à celui de la population, les systèmes biologiques présentent des oscillations permanentes des paramètres physiques caractéristiques: activité enzymatique, concentration des métabolites, paramètres déterminant le comportement physiologique, effectif des populations, etc.

Il existe des arguments attestant qu'un système biologique non seulement peut être oscillatoire, mais qu'il doit l'être. Le premier argument découle de tout ce qui a été exposé au chapitre précédent. Un système ouvert complexe incluant des réactions chimiques autocatalytiques accède assez souvent, loin de l'équilibre, aux cycles limites. Dans un tel système les auto-oscillations sont donc tout à fait probables. Le second argument est dû à Moltchanov. Les systèmes biologiques résultent d'une évolution durable. Au cours de cette évolution les systèmes stables ont eu le temps de s'équilibrer en devenant une partie intégrante du milieu. Quant aux systèmes instables, ils ont dû se désagréger pendant le même temps. Par conséquent, seuls les systèmes, dont les mouvements internes ont une nature oscillatoire, ont pu survivre.

L'évolution — prébiologique et biologique — s'est déroulée sur la Terre qui tourne autour du Soleil et autour de son axe. Ce fait ne pouvait ne pas se repercuter sur le cours même de l'évolution (v. § 17.5). En même temps, l'évolution qui s'effectuait dans les conditions de changements périodiques de la température, de l'éclairage et de l'humidité, devait en laisser une empreinte dans la physiologie des animaux et des végétaux. C'est le troisième argument. En effet, une périodicité nycthémérale est inhérente aux phénomènes vitaux. C'est pour cela qu'on a introduit la notion d'*horloge biologique*. On

appelle *rythmes circadiens* les fluctuations ayant une période proche de vingt-quatre heures, telles que l'alternance des jours et des nuits. Ces rythmes sont présents dans toute la nature vivante, ils ont un caractère endogène, congénital. La cause physique des rythmes circadiens consiste, indiscutablement, dans des processus auto-oscillants: leurs périodes sont pratiquement indépendantes de la température et des autres facteurs extérieurs. Les rythmes circadiens sont autonomes aussi bien au niveau de l'organisme qu'au niveau cellulaire.

Le quatrième argument, non moins important, est que toute machine quelque peu complexe ne peut fonctionner de façon continue que par transformation périodique d'énergie en travail. La périodicité caractérise tout dispositif de mouvement: ainsi, la roue fut une des plus grandes réalisations de *Homo sapiens* (v., d'ailleurs, p. 432). Il est évident qu'un système vivant complexe à existence autonome atteint, par évolution, le niveau d'une machine à fonctionnement périodique: nous parlons ici des systèmes respiratoire et circulatoire. Les mouvements de l'animal — course du guépard, bonds du kangourou, vol de l'oiseau, nage du poisson, reptation du serpent, mouvement des cils vibratiles de l'infusoire — sont des processus périodiques, souvent *auto-ondulatoires*, de transformation d'énergie chimique en travail mécanique (Chapitre 12). L'étude théorique et expérimentale des phénomènes périodiques chimiques et biologiques présente donc une très grande importance pour la biophysique, la biochimie, la physiologie et la biologie en général.

§ 16.2. Réactions de Bélousov-Zhabotinski

Nous commencerons l'examen des processus périodiques par les phénomènes chimiques auto-oscillants.

En 1959 Bélousov a signalé, dans un court article, un phénomène qu'il avait découvert et qui consistait en variations périodiques de la coloration de la solution (avec une fréquence de l'ordre de 10^{-2} Hz) au cours de l'oxydation de l'acide citrique par le bromate, catalysée par des ions cérium. Ces variations de la coloration provenaient des transformations périodiques $Ce^{3+} \rightleftarrows Ce^{4+}$. Bélousov a observé des dizaines de périodes. Zhabotinski et col. (1964-1974) ont poursuivi l'étude expérimentale et théorique de ces phénomènes et de certains autres.

Les réactions de Bélousov-Zhabotinski sont des réactions d'oxydoréduction. Nous allons considérer, à titre d'exemple, une réaction où l'oxydant est le bromate (ion BrO_3^-), le réducteur l'acide malonique (AM, $H_2C(COOH)_2$) et le catalyseur des ions cérium. Les fluctuations de la couleur dues aux variations de la concentration en Ce^{4+}, sont relaxationnelles (fig. 16.1, *a*). Leur période τ se subdivise en deux phases, τ_1 et τ_2: augmentation et diminution de $[Ce^{4+}]$. Le

schéma simplifié de la réaction comporte deux étapes correspondantes :

$$Ce^{3+} \xrightarrow{BrO_3^-,\ H^+} Ce^{4+} \quad \text{(I, oxydation)},$$

$$Ce^{4+} \xrightarrow{AM} Ce^{3+} \quad \text{(II, réduction)}.$$

Les produits de la réduction du bromate, formés au cours de l'étape I, broment l'acide malonique. L'acide bromomalonique (ABM)

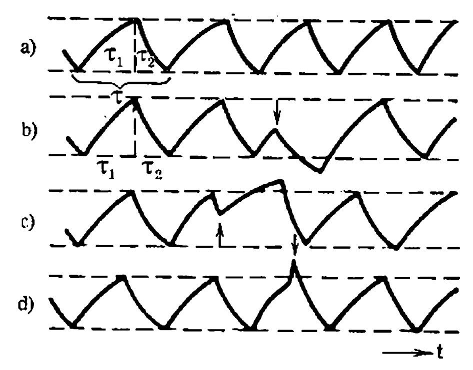


Fig. 16.1. Auto-oscillations de la concentration de Ce^{4+} (*a*). Sauts des phases dans les oscillations de Ce^{4+} par suite des additions uniques de Br^- (*b*), Ag^+ (*c*), Ce^{4+} (*d*). Les flèches correspondent à l'instant de l'addition

qui en résulte se décompose ensuite en libérant Br^-. L'ion bromure inhibe sensiblement la réaction.

Le processus oscillant se produit comme suit. Le système possède une certaine quantité initiale de Ce^{4+}. Alors, au cours de l'étape II, il y a formation de Br^- qui inhibe la réaction I et disparaît du système avec une certaine vitesse. La concentration en Ce^{4+} diminue par réduction dans la réaction II, ainsi que par suite de l'inhibition de la réaction I par le bromure. Quand la concentration $[Ce^{4+}]$, consommée dans la réaction II, atteint sa valeur limite inférieure, la concentration en Br^- décroît également. La réaction I recommence, conduisant à l'accroissement de la concentration en Ce^{4+}. Quand cette dernière atteint sa valeur limite supérieure, on voit croître brusquement $[Br^-]$, ce qui inhibe la réaction I. Puis le cycle recommence.

Ce schéma se trouve confirmé par les faits expérimentaux suivants.

1. De faibles quantités de Br^-, introduites dans le système au cours de la phase d'augmentation de $[Ce^{4+}]$, provoquent la commu-

tation (fig. 16.1, *b*). La quantité minimale de Br^- provoquant la commutation diminue vers la fin de τ_1.

2. Br^-, ajouté pendant la phase τ_2, la prolonge. L'effet est d'autant plus prononcé que la quantité ajoutée est plus importante et que l'addition est plus proche de la fin de τ_2.

3. Une addition de Ag^+ fixant Br^- provoque les événements contraires. L'ion Ag^+ introduit pendant la phase τ_2 provoque la commutation (fig. 16.1, *c*), alors que, ajouté durant la phase d'accroissement, il prolonge τ_1.

4. Si l'on ajoute lentement et de façon continue du bromure Br^- dans un système au régime oscillatoire, les oscillations s'interrompent et $[Ce^{4+}]$ se maintient à son niveau inférieur. Dès qu'on cesse d'ajouter Br^-, les oscillations se reprennent.

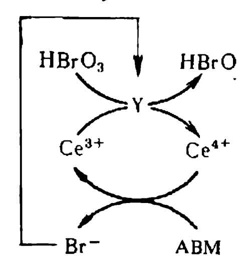


Fig. 16.2. Schéma général de la réaction chimique périodique

5. On obtient un résultat analogue en ajoutant lentement Ce^{4+}.

6. L'introduction de Ce^{4+} pendant la phase τ_1 provoque la commutation (fig. 16.1, *d*).

Le schéma général de la réaction est montré sur la figure 16.2.

Ces expériences sont très spectaculaires: la solution vire périodiquement du bleu au rose et inversement.

Dans les réactions auto-oscillantes de ce type il faut que le réducteur soit facilement oxydable par la forme oxydée du catalyseur et qu'il ne réagisse pas directement sur le bromate. Il faut aussi que le réducteur soit aisé à bromer et que les dérivés bromés correspondants se décomposent en libérant Br^-. On a étudié une série de réactions avec des réducteurs différents.

Des expériences directes ont montré que ces réactions sont tout à fait homogènes; la surface du réacteur n'agit ni sur le déroulement de cette réaction périodique, ni sur la dépendance de la stabilité avec la concentration des réactifs.

Les réactions de Bélousov-Zhabotinski sont complexes, il est difficile de recenser toutes leurs étapes: il semble que leur nombre n'est pas inférieur à 11. On peut pourtant simplifier le problème en expliquant les fluctuations dans une solution homogène à partir de trois corps clefs: 1) $HBrO_2$ qui joue le rôle de commutateur intermédiaire, 2) Br^-, intermédiaire de contrôle et 3) Ce^{4+}, catalyseur. Les réactions prédominantes sont les suivantes:

Br^- en quantité suffisante

$$BrO_3^- + Br^- + 2H^+ \xrightarrow{k_1} HBrO_2 + HBrO, \qquad (I)$$

$$HBrO_2 + Br^- + H^+ \xrightarrow{k_2} 2HBrO; \qquad (II)$$

Br^- restant en faible quantité

$$BrO_3^- + HBrO_2 + H^+ \xrightarrow{k_3} 2BrO_2 + H_2O, \quad (III)$$

$$2BrO_2 + 2Ce^{3+} + 2H^+ \xrightarrow{k_4} 2HBrO_2 + 2Ce^{4+}, \quad (IV)$$

$$2HBrO_2 \xrightarrow{k_5} BrO_3^- + HBrO + H^+. \quad (V)$$

La première étape détermine la vitesse. L'acide hypobromeux HBrO est rapidement consommé pour bromer l'acide malonique. Au cours des étapes (I) et (II) on voit se réaliser un état quasi stationnaire (A):

$$k_2\,[HBrO_2]_A[Br^-][H^+] \approx k_1\,[BrO_3^-][H^+]^2[Br^-],$$

soit

$$[HBrO_2]_A \approx (k_1/k_2)\,[BrO_3][H^+],$$

avec $k_1/k_2 = 10^{-9}$.

Dans les réactions suivantes la vitesse est limitée par (III). Les étapes (III) et (IV) sont, prises ensemble, autocatalytiques par rapport à $HBrO_2$. Le nouvel état quasi stationnaire (B) correspond à la condition

$$k_5\,[HBrO_2]_B^2 \approx k_3\,[BrO_3^-][HBrO_2][H^+],$$

ou

$$[HBrO_2]_B \approx (k_3/k_5)\cdot[BrO_3^-][H^+],$$

où $k_3/k_5 \approx 10^{-4}$, $k_3 = 10^4\ M^2s^{-1}$.

Les étapes (II) et (III) montrent que Br^- et BrO_3^- se disputent $HBrO_2$. Une production autocatalytique de $HBrO_2$ est impossible, tant que $k_2\,[Br^-] > > k_3\,[BrO_3^-]$. A la concentration critique en bromure

$$[Br^-]_{cr} = \frac{k_3}{k_2}\,[BrO_3^-] \approx 5\cdot10^{-6}[BrO_3^-],$$

au lieu de suivre les étapes (I), (II), la réaction s'oriente vers (III), (IV). Lorsque $[HBrO_2]$ augmente, $[Br^-]$ diminue suivant (II), en passant par le niveau critique. D'autre part, Ce^{4+} engendré dans (IV) régénère Br^-:

$$4Ce^{4+} + BrCH(COOH)_2 + H_2O + HBrO \xrightarrow{k_6} 2Br^- + 4Ce^{3+} + 3CO_2 + 6H^+, \quad (IV)$$

alors $[Br^-]$ redevient supérieure à $[Br^-]_{cr}$ et la concentration $[HBrO_2]_A$ est restituée.

Le modèle mathématique du processus (l'« *oregonateur* ») se présente comme suit. Notons $X = [HBrO_2]$, $Y = [Br^-]$, $Z = 2\,[Ce^{4+}]$, $A = [BrO_3^-]$, P, Q désignant les autres produits. Les équations (I) à (VI) prendront alors la forme

$$A + Y \xrightarrow{k_1} X, \quad X + Y \xrightarrow{k_2} P, \quad A + X \xrightarrow{k_{3,4}} 2X + Z, \quad 2X \xrightarrow{k_5} Q, \quad Z \xrightarrow{k_6} \nu Y.$$

Ici ν est le coefficient stœchiométrique approprié. L'estimation expérimentale des constantes de vitesse donne: $k_1 = 1{,}34\ M^{-1}s^{-1}$, $k_2 = 1{,}6\cdot10^9\ M^{-1}s^{-1}$, $k_{3,4} = = 8\cdot10^3\ M^{-2}s^{-1}$, $k_5 = 4\cdot10^7\ M^{-1}s^{-1}$. Les valeurs de ν et k_6 sont des paramètres. On introduit les constantes $A = 0{,}06$ M et $[H^+] = 0{,}8$ M. Les équations non linéaires des réactions irréversibles (loin de l'équilibre) sont de la forme

$$\begin{aligned} \dot{X} &= k_1AY - k_2XY + k_{3,4}\,AX - 2k_5X^2, \\ \dot{Y} &= -k_1AY - k_2XY + \nu k_6Z, \\ \dot{Z} &= k_{3,4}AX - k_6Z. \end{aligned} \quad (16.1)$$

On introduit les variables sans dimension

$$x=\frac{k_2}{k_1A}X,\quad y=\frac{k_2}{k_{3,4}A}Y,\quad z=\frac{k_2k_6}{k_1k_{3,4}A^2}Z,$$

$$\tau=A\sqrt{k_1k_{3,4}}t,\quad q=2\frac{k_1k_5}{k_2k_{3,4}},\quad s=\sqrt{\frac{k_{3,4}}{k_1}},\quad w=\frac{k_6}{A\sqrt{k_1k_{3,4}}}. \qquad (16.2)$$

On obtient

$$\frac{dx}{d\tau}=s(y-xy+x-qx^2),$$

$$\frac{dy}{d\tau}=\frac{1}{s}(-y-xy+\nu z), \qquad (16.3)$$

$$\frac{dz}{d\tau}=w(x-z).$$

Il découle des estimations données plus haut que $q = 8{,}4\cdot10^{-6}$, $s \approx 80$ et $w = 0{,}16k_6$. Le système possède deux échelles temporelles : l'évolution de x est déterminée par la plus grande constante s et l'évolution de y et z par de petites constantes.

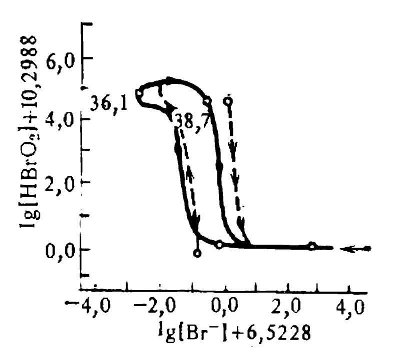


Fig. 16.3. Cycle limite pour l'« oregonateur »

Les solutions stationnaires de (16.3) sont de la forme

$$z_0=x_0,\ y_0=\frac{\nu x_0}{1+x_0}=\frac{1}{2}\ (1+\nu)-qx_0]. \qquad (16.4)$$

La deuxième équation (16.4) est équivalente à l'équation tirée de la première équation (16.3)

$$qx_0^2+[q-(1-\nu)]\,x_0-(1+\nu)=0.$$

La linéarisation suivant la règle déjà connue (p. 523) donne

$$x=x_0+\alpha e^{\lambda\tau},\quad y=y_0+\beta e^{\lambda\tau},\quad z=z_0+\gamma e^{\lambda\tau}.$$

Ce système est plus compliqué que les précédents (modèle de Lotka-Volterra, bruxellateur) : son équation caractéristique n'est plus du deuxième, mais du troisième ordre :

$$\lambda^3-f\lambda^2+g\lambda-h=0, \qquad (16.5)$$

où f, g, h dépendent de x_0, y_0, z_0 et des paramètres s, w, ν, q, dont ν et w varient. Le processus auto-oscillant (le cycle limite) apparaît, lorsque le point (x_0, y_0, z_0) est instable. Il est possible de démontrer que le domaine de ces solutions existe réellement, si

$$0{,}50<\nu<2{,}41.$$

La figure 16.3 représente le cycle limite sur le plan lg X, lg Y.

On peut contrôler le régime des oscillations par l'intermédiaire d'effets extérieurs. Il s'agit d'un apport constant de Br^- ou de l'action sur la solution de la lumière ultraviolette qui conduit au même résultat, car cette lumière décompose l'acide bromomalonique en libérant Br^-. Les auto-oscillations sont synchronisées par l'action

d'une force périodique extérieure: impulsions lumineuses rectangulaires d'une fréquence de répétition voisine de la fréquence des auto-oscillations. Il va de soi que le processus cesse, lorsque tout l'acide malonique se trouve oxydé en CO_2 (réaction (VI)).

Nous venons de considérer un système ponctuel, concentré. Dans le cas d'un système distribué, où les réactions chimiques s'accompagnent de diffusion (v. § 15.4), on peut y observer des processus ondu-

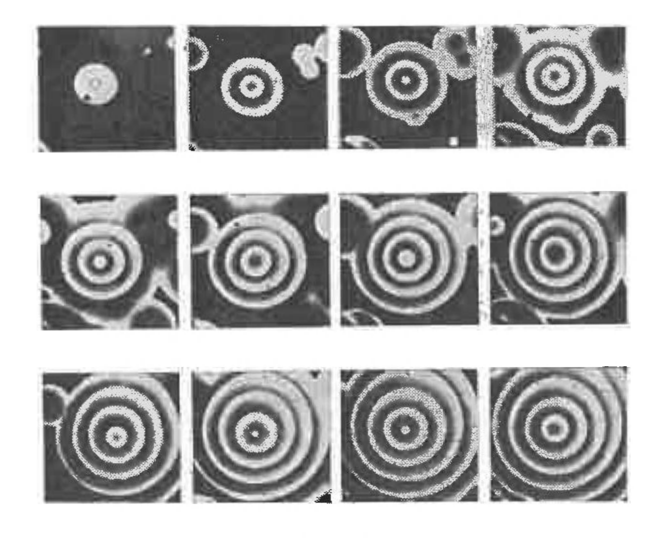


Fig 16.4. Echos

latoires, dont les caractéristiques spatiales et temporelles ne dépendent pas des conditions initiales: les *processus auto-ondulatoires* qui jouent évidemment un grand rôle dans plusieurs phénomènes biologiques: dans la morphogénèse (§ 17.7), dans le comportement des tissus excitables (§§ 16.5, 16.6), etc.

Zhabotinski et Zaïkine ont observé et étudié les processus auto-ondulatoires dans le système chimique décrit ci-dessus. Pour obtenir un système distribué, il faut assurer l'absence de la convection tout en préservant la diffusion. On le réalise dans des tubes fins (système unidimensionnel) ou dans des couches fines (système à deux dimensions). Le catalyseur n'était plus Ce^{3+}, mais de la ferroïne (complexe de fer). Pour exciter le système, on effleure la surface de la solution avec une aiguille trempée dans une solution de $AgNO_3$ (Ag^+ lie Br^-) ou avec un fil chaud. Alors on voit apparaître des ondes qui se déplacent à quelque 0,01 cm/s. On a pu trouvé expérimentalement des sources ponctuelles d'autogénération, les *échos*, engendrés dans un milieu homogène par des fluctuations locales de la concentration, i.e. par des conditions initiales particulières. Les ondes de concen-

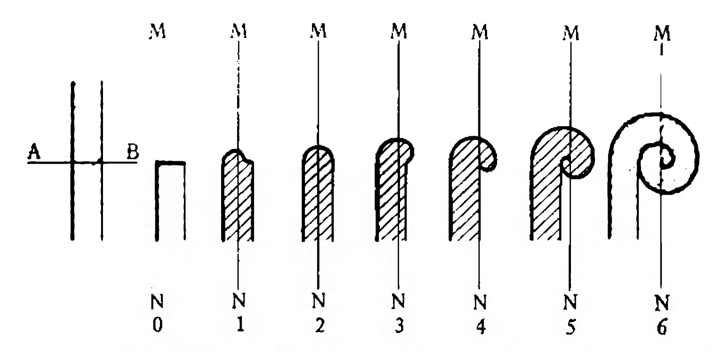


Fig. 16.5. Formation d'un réverbérateur par suite de la rupture du front d'onde
Le trait gras délimite la zone d'excitation, *AB* est la ligne de rupture du front, *0* à *6* sont les instants successifs, *MN* est la ligne du front à l'instant *0*

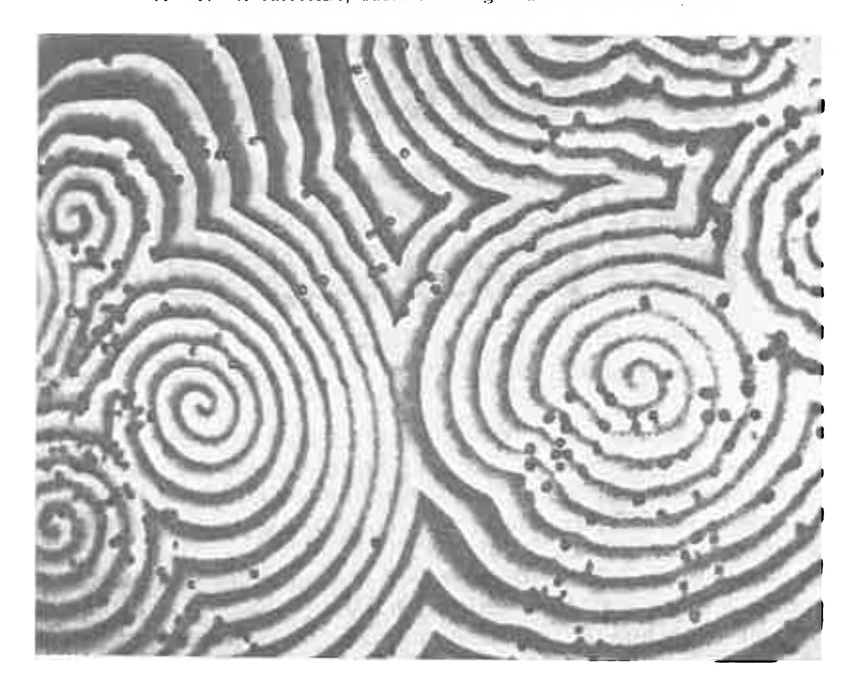


Fig. 16.6. Réverbérateurs chimiques. Les taches noires sont des bulles d'air

tration se propagent, à partir de ces sources, avec une vitesse constante. On trouvera sur la figure 16.4 les échos, photographiés dans le système décrit toutes les 30 s.

La rupture du front d'onde peut engendrer un *réverbérateur*, onde spiralée. Le réverbérateur se forme, en particulier, quand l'onde se



Fig. 16.7. Lichen *Parmelia centrifuga*

déplace dans un milieu à deux dimensions autour d'un orifice: la spirale est la développante de l'orifice.

La formation d'un réverbérateur est schématisée sur la figure 16.5. Zhabotinski et Zaïkine ont observé les ondes spiralées provenant d'une perturbation de l'homogénéité du système: une baisse locale de son acidité. La figure 16.6 montre une photographie de réverbérateurs chimiques, alors que la figure 16.7 représente un lichen. La ressemblance saute aux yeux. Il est certain que la croissance périodique du lichen n'est pas un analogue du comportement des systèmes chimiques considérés, mais on a toutes les raisons de croire que les processus chimiques auto-oscillants et auto-ondulatoires simulent d'importants phénomènes biologiques.

§ 16.3. Auto-oscillations au cours de la glycolyse

Les non-linéarités dans la cinétique des processus biochimiques (enzymatiques) se manifestent, dans certains cas, dans leur périodicité observée. En général, l'origine des oscillations dans les systèmes

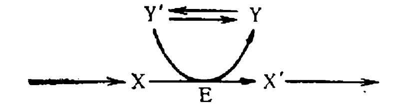


Fig. 16.8. Réaction inhibée par le substrat

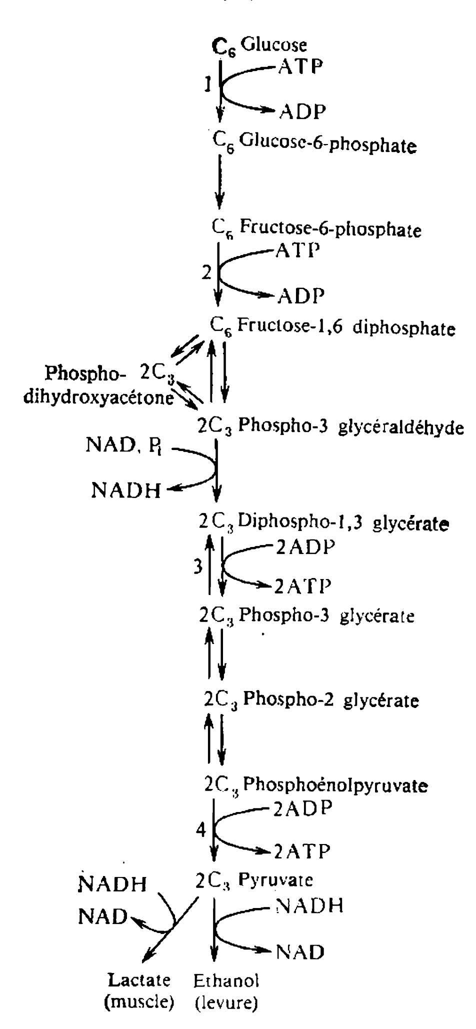


Fig. 16.9. Schéma simplifié de la glycolyse :

C_6, C_3 sont les composés à 6 et à 3 carbones. *1* à *4* sont les réactions qui déterminent la cinétique du processus entier

biochimiques est claire : elles proviennent de l'autocatalyse; dans ce sens, les réactions périodiques de la nature inanimée en sont les modèles.

Nous avons déjà rencontré des processus biochimiques non linéaires : les réactions enzymatiques coopératives (§ 6.7). En règle générale, les phénomènes chimiques obéissant à la loi d'action de masse, ne sont pas linéaires. Ne le sont pas les interactions entre les éléments d'un système multienzymatique, ainsi que les interactions entre les systèmes de ce type. Les réactions inhibées par l'excès de substrat ou de coenzyme sont des processus enzymatiques non linéaires types. La réaction

$$X + Y' \xrightarrow{E} X' + Y,$$

catalysée par l'enzyme E, est inhibée par la forme active du coenzyme Y'. Le schéma de la réaction est montré sur la figure 16.8. Sous certaines conditions ce système se caractérise par des états stationnaires instables et peut devenir auto-oscillant (Selkov).

Des phénomènes périodiques, auto-oscillants, sont caractéristiques du processus de *glycolyse* : transformation anaérobie des hexoses en acides tricarboxyliques, accompagnée de synthèse d'ATP (v. § 2.10). La figure 16.9 présente le schéma simplifié du processus. Chance, Hess et col. ont d'abord détecté des oscillations de concentration amorties au cours de la glycolyse, puis découvert des auto-oscillations entre-

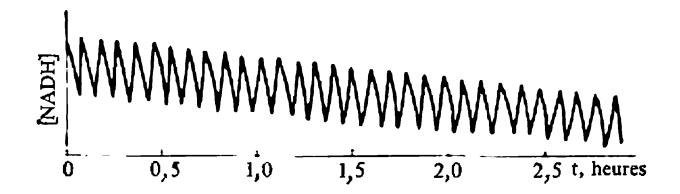


Fig. 16.10. Oscillations de la concentration de NADH dans l'extrait de levure

tenues (1964). On peut voir sur la figure 16.10 les oscillations de la concentration d'un des produits de la glycolyse ($NADH_2$) qui ont une forme quasi sinusoïdale. Selon Selkov, ce sont quelques « goulots d'étranglement » (*1* à *4* sur la fig. 16.9) qui déterminent la cinétique du processus entier. Nous désignerons par v_0 la vitesse de la réaction *1* catalysée par l'enzyme hexokinase (HK). La réaction $C_6' \rightleftarrows C_6''$ étant rapide et réversible, on peut admettre que les concentrations de ces deux hexoses sont proportionnelles l'une à l'autre. La concentration X de chacun des corps C_6', C_6'' croît avec la vitesse v_0 et décroît à cause de la réaction *2* catalysée par la phosphofructokinase (PFK). Ensuite, jusqu'à la réaction *3*, il se produit quelques réactions réversibles rapides où les concentrations des intermédiaires sont proportionnelles les unes aux autres. Nous désignerons une de ces concentrations par Y. La PFK est activée par les produits de sa réaction (par le corps Y). Voilà pourquoi l'augmentation de Y par la réaction *2* dépend aussi bien de X que de Y. La vitesse de l'accroissement de Y est égale à la vitesse de la décroissance de X. Dans la réaction *3*, catalysée par la pyruvate-kinase (PK), Y décroît. On obtient les équations cinétiques

$$\begin{aligned} \dot{X} &= v_0 - k_1 \frac{X}{K_X+X} \frac{Y}{K_Y+Y}, \\ \dot{Y} &= k_1 \frac{X}{K_X+X} \frac{Y}{K_Y+Y} - k_2 \frac{Y}{K+Y}. \end{aligned} \tag{16.6}$$

Dans le travail de Selkov (1968) à la place du facteur $Y/(K_Y + Y)$ figure $Y^2/(K_Y + Y)^2$, soit un ordre plus élevé de l'activation de la PFK, ce qui est justifié par des données biochimiques. Mais déjà le système simple (16.6) possède la non-linéarité qui nous préoccupe. Qui plus est, on peut maintenir le régime auto-oscillatoire même en poussant la simplification encore plus loin, si l'on pose que $K_X \gg X$, $K_Y \gg Y$. Il vient alors le système

$$\begin{aligned} \dot{X} &= v_0 - k_1' XY, \\ \dot{Y} &= k_1' XY - k_2' \frac{Y}{1+Y/K}, \end{aligned} \tag{16.7}$$

similaire au système de Lotka (v. p. 516). Ici $k_1' = k_1 K_X K_Y$, $k_2' = k_2/K$; v_0 est proportionnelle à la teneur en HK, k_1' à la teneur en PFK et k_2' à la teneur en PK.

Les concentrations stationnaires de X et Y valent respectivement:

$$X_0 = \frac{k_2' - v_0/K}{k_1'}, \quad Y_0 = \frac{v_0}{k_2' - v_0/K}.$$

On introduit les variables sans dimension

$$x = \frac{X}{X_0}, \quad y = \frac{Y}{Y_0}, \quad \tau = k_1' Y_0 t = \frac{k_1' v_0}{k_2' - v_0/K} t.$$

Les équations (16.7) se récrivent comme suit:

$$\frac{dx}{d\tau} = 1 - xy, \quad \frac{dy}{d\tau} = qy\left(x - \frac{1+r}{1+ry}\right), \tag{16.8}$$

où

$$q = \frac{(k_2' - v_0/K)^2}{v_0 k_1'}, \quad r = \frac{Y_0}{K} = \frac{v_0/K}{k_2' - v_0/K}.$$

Le portrait de phase du système sur le plan x, y et les isoclines principales (v. p. 507) sont montrés sur la figure 16.11. L'isocline des tangentes verticales (I) est l'hyperbole $y = 1/x$, celle des tangentes horizontales (II) l'hyperbole $x = (1 + r)/(1 + ry)$ et la droite $y = 0$. En linéarisant les équations (16.8), on détermine la nature du point singulier 0. Les racines de l'équation caractéristique sont égales à

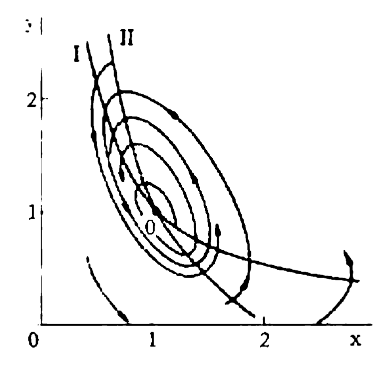


Fig. 16.11. Portrait de phase des oscillations lors de la glycolyse

$$\lambda_{1,2} = -\frac{1}{2}\left(1 - \frac{qr}{1+r}\right) \pm$$
$$\pm \frac{1}{2}\left[\left(1 - \frac{qr}{1+r}\right)^2 - \frac{4q}{1+r}\right]^{1/2}.$$

Lorsque $4q/(1 + r) > (1 - qr/(1 + r))^2$, le point 0 est un foyer. Quand $qr/(1+r) < 0$, le foyer est stable. Il est instable pour $qr/(1 + r) > 0$ et on voit alors apparaître un cycle limite. Si $qr/(1 + r) = 1$, il y a bifurcation. Au voisinage de ce point, à condition que $|qr/(1 + r) - 1| \ll 1$, la fréquence des oscillations est égale à la partie imaginaire de la racine de l'équation caractéristique, soit

$$\omega \approx \sqrt{\frac{q}{1+r}}. \tag{16.9}$$

Ainsi, le système (16.7) est auto-oscillant sous certaines conditions. L'augmentation du paramètre q favorise l'amplification des auto-oscillations, la diminution de q conduit à leur amortissement. Il s'ensuit de l'expression pour q que la diminution de k_1' et de la vitesse d'apport v_0 doit provoquer l'auto-excitation des oscillations. L'augmentation de k_2' (addition de PK) doit conduire au même résultat. L'expérience le confirme.

§ 16.4. Auto-oscillations dans la photosynthèse

La photosynthèse (v. Chapitre 14) subit des variations périodiques de l'intensité. La périodicité, déterminée par le rythme endogène, serait inhérente au cycle obscur de Calvin (p. 478), car les réactions

du cycle lumineux sont très rapides ne durant que quelques fractions de la seconde. Le rythme lié au cycle obscur est caractérisé par une période sensiblement inférieure à vingt-quatre heures, mais synchronisée avec la périodicité de l'éclairage.

Il est évident que le rythme photosynthétique directement observable doit dépendre des processus biochimiques périodiques du cycle obscur. Tchernavski et col. (1958) ont élaboré un modèle théorique des oscillations dans les réactions obscures de la photosynthèse.

Le cycle de Calvin fait intervenir des composés à 3, 5 et 6 carbones. L'examen de toutes les équations cinétiques caractérisant le cycle serait par trop laborieux. Il vaut mieux simplifier au maximum le système, tout en conservant, toutefois, ses particularités qualitatives essentielles. Les étapes lentes limitent la cinétique du processus, alors qu'on peut considérer comme équilibrées les étapes réversibles rapides. On se bornera donc à examiner les étapes limitatives.

Nous ne considérerons que deux équations cinétiques avec, comme variables, les concentrations en C_3 et C_6. Toutes les autres variables seront exprimées algébriquement en fonction de C_3 et C_6. Le cycle de Calvin comportant, pour l'essentiel, des réactions bimoléculaires, la cinétique est décrite par des équations d'ordre 2:

$$\begin{aligned}\dot{C}_3 &= \alpha_1 C_3^2 + \alpha_2 C_3 C_6 + \alpha_3 C_6^2,\\ \dot{C}_6 &= \beta_1 C_3^2 + \beta_2 C_3 C_6 + \beta_3 C_6^2;\end{aligned} \tag{16.10}$$

$\alpha_3 = 0$, car la concentration des trioses ne change pas au cours de la réaction entre deux hexoses. C_6 ne peut augmenter que par combinaison de deux molécules de C_3. Par conséquent, $\beta_1 > 0$, β_2, $\beta_3 < 0$. La teneur en trioses augmente par un processus plus complexe faisant intervenir aussi bien des trioses que des hexoses C_6. On peut poser $\alpha_1 > 0$, $\alpha_2 < 0$. Il vient

$$\begin{aligned}\dot{C}_3 &= \alpha_1 C_3^2 - \alpha_2 C_3 C_6,\\ \dot{C}_6 &= \beta_1 C_3^2 - \beta_2 C_3 C_6 - \beta_3 C_6^2,\end{aligned} \tag{16.11}$$

où tous les α_i, $\beta_i > 0$.

On trouve les isoclines et les états stationnaires correspondant à $\dot{C}_3 = \dot{C}_6 = 0$. Les deux isoclines sont des droites qui passent par l'origine des coordonnées; leurs équations sont $C_6 = a_1 C_3$ et $C_6 = a_2 C_3$, a_1 et a_2 satisfaisant aux conditions $\alpha_1 - a_1\alpha_2 = 0$ et $\beta_1 - \beta_2 a_2 - \beta_3 a_2^2 = 0$. Il n'existe qu'un seul état stationnaire $C_3^0 = C_6^0 = 0$ pour $a_1 \neq a_2$ ou un ensemble infini de ces états pour $a_1 = a_2$. Dans le premier cas la photosynthèse est absente, dans le second on a des états indifférents instables. Il n'y a pas de cycles limites ni d'auto-oscillations. Le système (16.11) s'avère donc insuffisant, le modèle est incomplet. Introduisons dans la première équation un terme constant supplémentaire $\alpha_0 > 0$ décrivant l'apport de C_3 dû à des processus autres que le cycle de Calvin (glycolyse, respiration). Cet apport sert d'initiateur du cycle. La nécessité d'un dispositif d'amorçage est caractéristique de l'auto-catalyse. On a donc

$$\begin{aligned}\dot{C}_3 &= \alpha_1 C_3^2 - \alpha_2 C_3 C_6 + \alpha_0,\\ \dot{C}_6 &= \beta_1 C_3^2 - \beta_2 C_3 C_6 - \beta_3 C_6^2.\end{aligned} \tag{16.12}$$

Passons aux variables $X = C_3/C_3^0$, $Y = C_6/C_6^0$, où C_3^0, C_6^0 sont les valeurs stationnaires de C_3, C_6, tirées des conditions $\dot{C}_3 = \dot{C}_6 = 0$. On a

$$\begin{aligned} \dot{X} &= \alpha_1' X^2 - \alpha_2' XY + \alpha_0', \\ \dot{Y} &= \beta_1' X^2 - \beta_2' XY - \beta_3' Y^2, \end{aligned} \tag{16.13}$$

où $\alpha_1' = \alpha_1 C_3^0$, $\alpha_2' = \alpha_2 C_6^0$, $\alpha_0' = \alpha_0/C_3^0$, $\beta_1' = \beta_1 (C_3^0)^2/C_6^0$, $\beta_2' = \beta_2 C_3^0$, $\beta_3' = \beta_3 C_6^0$. Dans l'état stationnaire $X = Y = 1$. Il vient donc

$$\begin{aligned} \alpha_1' - \alpha_2' + \alpha_0' &= 0, \\ \beta_1' - \beta_2' - \beta_3' &= 0. \end{aligned} \tag{16.14}$$

Dans le régime stationnaire le coefficient β_1' représente la quantité de l'hexose formé par unité de temps à partir du triose, β_2' la quantité de l'hexose quittant le cycle de Calvin pour former de l'amidon et β_3' la quantité de l'hexose retournant dans le cycle. Pour faire partir une molécule d'hexose, il faut six tours du cycle, étant donné qu'au cours de chaque cycle une seule molécule de CO_2 est assimilée. Voilà pourquoi $\beta_2' = \beta_3'/6$. Par conséquent, $\beta_3' = 6\beta_1'/7$, $\beta_2' = \beta_1'/7$. D'autre part, $\alpha_0' \ll \alpha_1'$, α_2'. En introduisant le temps sans dimension $\tau = \alpha_1' t$, on a

$$\begin{aligned} \frac{dX}{d\tau} &= X^2 - \frac{\alpha_2'}{\alpha_1'} XY + \frac{\alpha_0'}{\alpha_1'}, \\ \frac{dY}{d\tau} &= \frac{\beta_1'}{\alpha_1'} \left(X^2 - \frac{1}{7} Y^2 - \frac{6}{7} XY \right). \end{aligned} \tag{16.15}$$

On linéarise le système en posant

$$X = 1 + x, \quad Y = 1 + y, \quad x, y, \ll 1.$$

Après avoir éliminé α_2' à l'aide de la première relation de (16.14), on déduit de (16.15)

$$\begin{aligned} \frac{dx}{d\tau} &= (1-\gamma)\, x - (1+\gamma)\, y, \\ \frac{dy}{d\tau} &= \frac{8}{7}\, \varepsilon\, (x-y), \end{aligned} \tag{16.16}$$

où $\gamma = \alpha_0'/\alpha_1'$, $\varepsilon = \beta_1'/\alpha_1'$. On cherche les solutions sous la forme

$$x = x_0 e^{\lambda\tau}, \quad y = y_0 e^{\lambda\tau}.$$

On trouve les racines de l'équation caractéristique

$$\lambda_{1,2} = {}^1/_2\, (1 - \gamma - {}^8/_7 \varepsilon) \pm [{}^1/_4\, (1 - \gamma - {}^8/_7 \varepsilon)^2 - {}^{16}/_7 \varepsilon\gamma]^{1/2}. \tag{16.17}$$

L'état stationnaire $x = y = 0$ est stable, lorsque la partie réelle de λ est négative, soit

$$1 - \gamma - {}^8/_7\, \varepsilon < 0,$$

et instable dans le cas contraire. Le passage au régime instable se produit à $\varepsilon = \frac{7}{8}(1-\gamma) \approx 0{,}87$ (étant donné que $\gamma \ll 1$). Quand α_1' augmente, cette transition devient possible.

La partie imaginaire de (16.17) définit les oscillations. Leur période sans dimension vaut $T = 2\pi/\mathrm{Im}\,\lambda$, où la partie imaginaire de λ $\mathrm{Im}\,\lambda = \pm [{}^{16}/_7\, \varepsilon\gamma - (\mathrm{Re}\,\lambda)^2]^{1/2}$. Lors du passage au régime instable, lorsque $\mathrm{Re}\,\lambda = 0$, il vient

$$T = \frac{2\pi}{\sqrt{{}^{16}/_7 \varepsilon\gamma}}.$$

On analyse le comportement du système en utilisant le procédé habituel des portraits de phase. Posons pour concrétiser $\gamma \approx 1/20$ et $\varepsilon \approx 2/3$. Dans ce cas la condition d'instabilité est satisfaite, car $19/20 > 16/21$. Les courbes intégrales sont définies par l'équation

$$\frac{dy}{dx} = \frac{2}{3}\,\frac{x^2 - {}^1/_7 y^2 - {}^6/_7 xy}{x^2 - {}^{21}/_{20} xy + {}^1/_{20}}. \tag{16.18}$$

Sur la figure 16.12 on voit le portrait de phase du système (16.16) pour les valeurs indiquées de γ et ε. Le système est auto-oscillant, C_3 et C_6 varient périodiquement avec la même phase. La détermination numérique ou graphique de la période des oscillations de C_3 et C_6 montre qu'elle est supérieure d'environ deux ordres de grandeur au temps caractéristique $1/\alpha_1'$. Ce temps est estimé à 5-10 minutes, la période T est de l'ordre de quelques heures. Les oscillations sont anharmoniques : le système passe la plus grande partie du temps dans la région des petites concentrations en C_3 et C_6.

Le calcul sur ordinateur montre que le système est synchronisé par un effet extérieur périodique (éclairage)

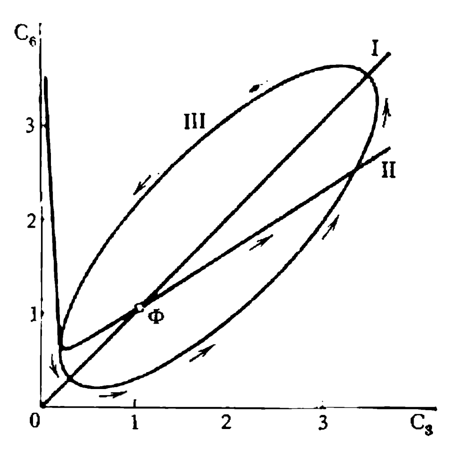


Fig. 16.12. Portrait de phase pour le modèle de la photosynthèse : *I* et *II* — lignes des isoclines parallèles et perpendiculaires, *III* — cycle limite. Φ ($x = y = 1$) est le foyer stable

§ 16.5. Dynamique non linéaire des membranes

Comme nous l'avons vu, les propriétés non linéaires des membranes excitables se manifestent nettement dans la génération et la propagation de l'influx nerveux (Chapitre 11). Considérons les variations périodiques de l'état des membranes, constatées dans une série d'expériences. Ainsi, on a observé des oscillations du potentiel électrique dans les membranes polyélectrolytiques très fines en double couche. La double couche était constituée par un polyacide (*a*) et une polybase (*b*). Elle possédait donc trois zones : à charge négative *a*, neutre et à charge positive *b* (fig. 16.13). La membrane était placée dans une solution 0,15 M de NaCl. En appliquant un potentiel négatif du côté de la polybase on observait des impulsions périodiques (spikes) et, à une certaine valeur critique de l'intensité du courant, des oscillations entretenues pendant des heures. Le courant traversant la membrane se compose du déplacement de cations à travers la zone *a* et de celui d'anions à travers la zone *b*. Cela conduit à une accumulation de NaCl dans la zone neutre centrale. L'accroissement de la pression osmotique engendre un afflux de solvant dans la membrane, où l'on voit monter la pression hydrostatique. Pendant le même temps, l'augmentation de la concentration du sel fait

décroître le nombre de molécules de polyélectrolyte, ce qui contribue aussi à élever la pression. Quand cet accroissement dépassera la pression osmotique, le flux de solvant changera de signe et la concentration du sel à l'intérieur de la membrane augmentera encore plus. Un gradient de concentration s'établira, le sel quittera la membrane et continuera d'en sortir après que la membrane aura atteint sa contraction maximale. Vient ensuite la relaxation, la membrane retrouve son état initial et tout recommence.

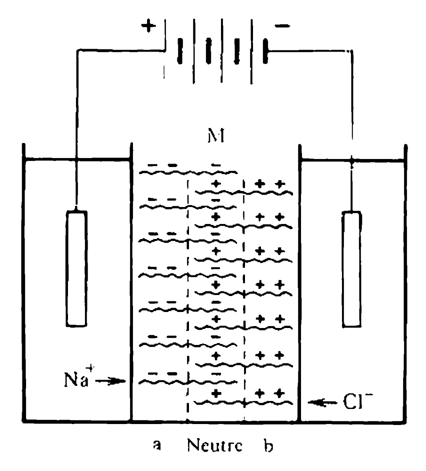


Fig. 16.13. Schéma de la membrane polyélectrolytique à trois couches

L'oscillateur membranaire de Teorell (1955) se compose de deux cellules remplies d'électrolyte de concentrations différentes et séparées par une membrane en verre poreux qui contient des charges négatives liées. En y faisant passer un courant continu on crée une différence de potentiel de part et d'autre de la membrane et les niveaux du liquide dans les cellules s'en trouvent déplacés. Sous l'action de courants continus intenses le système présente des oscillations périodiques des niveaux du liquide et du potentiel membranaire. La membrane contenant des charges négatives, l'électrolyte qui occupe ses pores comporte, de préférence, des cations. Le champ extérieur fait se déplacer les cations et le solvant. La distribution des concentrations dans les pores de la membrane dépend de la quantité du liquide qui s'écoule et de la vitesse de son écoulement. La résistance de la membrane dépend, à son tour, de ces facteurs. Les forces agissant sur le système sont fonction de l'état du système. On voit paraître des auto-oscillations, dont la théorie a été développée par Teorell (1964), Markin (1971) et autres.

Dans le cas des membranes biologiques contenant des enzymes à propriétés coopératives, les variations périodiques de l'état de la membrane peuvent être déterminées par un couplage non linéaire entre le transport de matière et les réactions chimiques. Examinons un exemple simple. Admettons que l'enzyme catalyse une décomposition irréversible du substrat S. Le flux chimique (v. p. 320) s'écrit

$$J_{\text{chim}} = v = -\frac{d_{\text{chim}}S}{dt} = kES, \tag{16.19}$$

où S est la concentration en substrat, E celle en enzyme, k la constante de vitesse. Soit une certaine concentration critique du subs-

trat S_{cr}, à laquelle l'enzyme subit des changements conformationnels coopératifs qui font croître son activité. Alors la constante de vitesse k augmente de k_1 jusqu'à k_2. La dépendance $J_{chim}(S)$ est représentée sur la figure 16.14. Par suite de sa coopérativité, J_{chim} subit une transition analogue à une transition de phase (v. p. 527). Le substrat arrive dans le système par diffusion à travers la membrane avec la vitesse

$$J_{diff} = \frac{d_{diff}S}{dt} = a(S_0 - S), \qquad (16.20)$$

où S_0 est la concentration de S (pratiquement constante) dans la source qui fournit le substrat. Lorsque $J_{chim} = J_{diff}$, la vitesse de variation de la concentration $\dot{S} = -\dot{S}_{chim} + \dot{S}_{diff} = 0$: le système est dans l'état stationnaire. La figure 16.14 montre la différence entre deux états stationnaires correspondant à $S_0 = S_0'$ et $S_0 = S_0''$. L'état stationnaire correspondant au point A d'intersection de la courbe J_{chim} et de la droite J'_{diff}, est stable, car lors d'une faible variation positive de la concentration du substrat $J_{chim} > J'_{diff}$ et la concentration du substrat diminuera, tant que le système ne sera revenu au point A. La fluctuation de S étant négative, le flux $J'_{diff} > J_{chim}$ et S augmentera jusqu'à ce que le système ait retrouvé le point A. Par contre, si le point d'intersection B où se rencontrent J_{chim} et J''_{diff} est situé sur la pente négative de la courbe J_{chim}, un tel état stationnaire est instable. A une fluctuation positive de S correspond $J''_{diff} > J_{chim}$ et S augmente jusqu'au point C. Ici l'en-

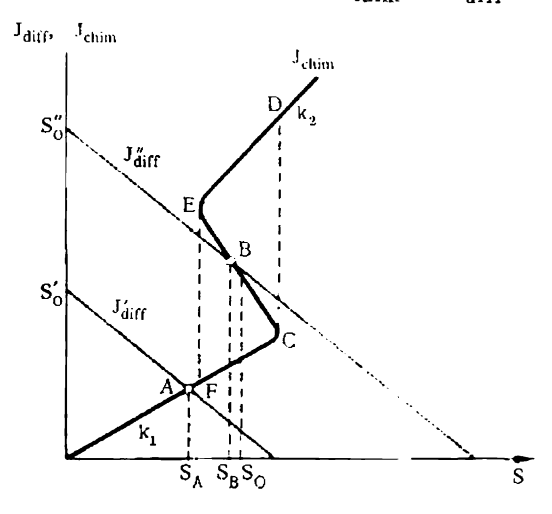


Fig. 16.14. Oscillations de la concentration dans un système chimiosmotique couplé

zyme subit une transformation conformationnelle, le système passe au point D où $J_{\text{chim}} > J''_{\text{diff}}$. La concentration du substrat S diminue jusqu'au point E, où l'enzyme reprend sa forme initiale, le système passant au point F. Là S augmente de nouveau, car $J''_{\text{diff}} > J_{\text{chim}}$, et le système se retrouve au point C. De cette façon, le système décrit la boucle d'hystérésis $CDEF$, à laquelle correspond le cycle limite sur le portrait de phase. On pourrait citer une multitude d'exemples d'un tel comportement des systèmes associant les réactions chimiques et la diffusion.

Les membranes excitables présentent un intérêt particulier pour la biologie. Nous avons vu que le modèle mathématique du tissu nerveux est exprimé, notamment, par les *équations de Hodgkin-Huxley* (p. 390). Il s'agit là d'équations non linéaires d'ordre 4. Or, si l'on se propose de faire une étude qualitative, on peut abaisser l'ordre de non-linéarité de quatre jusqu'à deux en éliminant les équations différentielles relatives aux composantes rapides (v. p. 516). Un des modèles simplifiés possibles d'ordre 2 a été obtenu et analysé par Krinski et Ivanitski.

Dans les équations de Hodgkin-Huxley les quantités n et h ($\tau_m \sim 10^{-4}$ s, $\tau_n \sim \tau_h \sim 2\cdot10^{-3}$ s) sont des variables lentes. On introduit les fonctions $\bar{m}(\varphi)$, $\bar{n}(\varphi)$, $\bar{h}(\varphi)$ qui expriment les valeurs stabilisées des variables correspondantes. Comme le montre l'expérience, $\bar{n}(\varphi)$ et $\bar{h}(\varphi)$ sont liés par la relation approximative

$$\bar{n}(\varphi) + \bar{h}(\varphi) \approx q = \text{const} \ (\approx 0{,}85). \qquad (16.21)$$

On simplifie les équations de Hodgkin-Huxley en remplaçant m par $\bar{m}(\varphi)$ et h par $q - n$. Alors les équations de départ (11.5) à (11.9)

$$\begin{aligned} I = C\frac{\partial\varphi}{\partial t} + (\varphi-\varphi_K)\bar{g}_K n^4 + (\varphi-\varphi_{Na})\bar{g}_{Na}m^3h + (\varphi-\varphi_Y)\bar{g}_Y, \\ \dot{m} = [\bar{m}(\varphi) - m]/\tau_m(\varphi), \\ \dot{n} = [\bar{n}(\varphi) - n]/\tau_n(\varphi), \\ \dot{h} = [\bar{h}(\varphi) - h]/\tau_h(\varphi) \end{aligned} \qquad (16.22)$$

fournissent le système

$$\begin{aligned} I = \alpha C\frac{\partial\varphi}{\partial t} + (\varphi-\varphi_K)\bar{g}_K n^4 + (\varphi-\varphi_{Na})\bar{g}_{Na}\bar{m}^3(\varphi)(q-n) + (\varphi-\varphi_Y)\bar{g}_Y, \\ \dot{n} = [\bar{n}(\varphi) - n]/\tau_n(\varphi). \end{aligned} \qquad (16.23)$$

Le paramètre α se trouve égal à 3. Les équations (16.23) donnent des résultats qui diffèrent peu de ceux que fournit le modèle de départ.

L'analyse qualitative du modèle à l'aide d'un portrait de phase se fait en construisant les isoclines $\dot{n} = 0$ et $\dot{\varphi} = 0$, soit

$$n = \bar{n}(\varphi) \qquad (16.24)$$

et

$$\bar{g}_K n^4 (\varphi - \varphi_K) + \bar{g}_{Na}(q - n)\bar{m}^3(\varphi)(\varphi - \varphi_{Na}) + \bar{g}_Y(\varphi - \varphi_Y) - I = 0. \qquad (16.25)$$

La dernière isocline a une forme en N sur le plan n, φ, ce qui assure la génération d'un influx. Le point singulier situé à l'intersection des isoclines est stable (fig. 16.15, *a*) : la membrane est au repos. Son activité spontanée peut résulter de l'augmentation de la conductance $\bar{g}_{Na}$ ou de la diminution de $\bar{g}_K$. Elle apparaît, lorsque le point de repos perd sa stabilité en engendrant un cycle limite et des auto-oscillations (fig. 16.15, *b*). Sont instables les points singuliers situés sur la branche médiane de l'isocline $\dot{\varphi} = 0$. Lorsque le courant de Na augmente encore plus (par exemple, par déplacement de m (φ) de 20 mV vers la gauche),

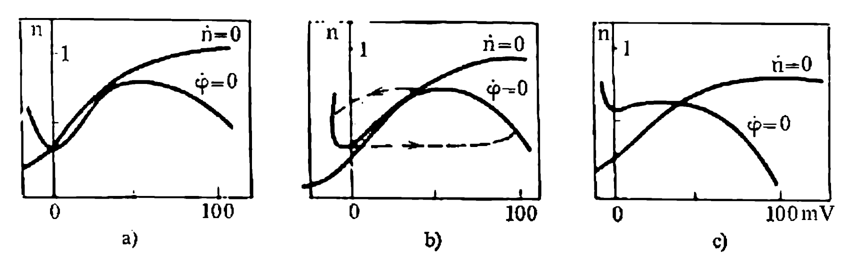


Fig. 16.15. Isoclines de zéro du système :
a) repos, *b*) activité spontanée, *c*) dépolarisation stable

la dépolarisation stable de la membrane disparaît (fig. 16.15, *c*). Des réponses périodiques répétées surgissent, quand le courant extérieur I dans (16.25) prend une valeur, pour laquelle le point singulier est situé dans la partie centrale de $\dot{\varphi} = 0$. En analysant qualitativement le portrait de phase, on arrive à déterminer les conditions du comportement trigger de la membrane. Dans certaines conditions expérimentales telles qu'une perfusion intracellulaire de CsF, l'axone de calmar a le comportement d'un trigger à deux états stables : la stimulation par un courant dirigé alternativement vers l'intérieur et vers l'extérieur provoque son « basculement » entre les deux états stables.

Tout ce que nous venons d'exposer montre qu'on a le droit d'interpréter les variations de l'état d'une membrane excitable en tant que des transitions de phase (v. § 15.5).

§ 16.6. Processus auto-ondulatoires dans le myocarde

Comme nous l'avons vu (Chapitre 12), le tissu musculaire est aussi un *milieu excitable* : l'excitation communiquée par le réseau des fibres nerveuses provoque des phénomènes mécanochimiques. On comprend donc l'importance exceptionnelle que présentent les processus en milieux excitables pour la physiologie et, en particulier, pour la physiologie du myocarde.

Ce sont Wiener et Rosenblueth qui introduisirent (en 1946) la notion de milieu excitable : milieu où la propagation de l'influx est entretenue par l'énergie stockée dans les cellules. L'influx est généré par chaque point du milieu. La fibre nerveuse fournit un exemple de milieu excitable unidimensionnel. Tout point d'un milieu excitable

peut présenter un des trois états suivants : *repos*, *excitation* et *réfractivité* (v. p. 380). Si l'on transmet l'excitation à une petite portion de fibre au repos, elle s'excitera pour le temps τ, puis passera dans l'état réfractaire de durée τ_R. Pendant la période de réfractivité τ_R la portion de fibre ne réagit plus au signal d'excitation ; aucune portion de fibre ne peut donc pas s'exciter avec une fréquence supérieure à τ_R^{-1}.

Les milieux excitables présentent des processus auto-ondulatoires analogues aux processus décrits au § 16.2. Des sources d'ondes peuvent également surgir dans des milieux, où aucun des éléments n'est susceptible d'excitation spontanée. L'apparition de telles sources est liée à certaines caractéristiques particulières du milieu et de l'onde d'excitation.

En considérant les réactions de Bélousov-Zhabotinski, nous avons rencontré deux types de sources d'ondes : échos qui envoient des ondes concentriques et réverbérateurs : ondes spiralées rotatives (v. fig. 16.4 et 16.6). La *fibrillation* qui est une arythmie cardiaque très dangereuse, provient, pour une large part, de la génération de réverbérateurs qui se multiplient par la suite (Krinski). L'arythmie est une désynchronisation de la propagation des ondes dans le myocarde : à la place des contractions synchrones on voit se produire des palpitations désordonnées ; l'organisme périt, si l'on n'a pas fait rapidement une défibrillation.

Dans un système bidimensionnel homogène le réverbérateur peut surgir, par exemple, en présence d'une ouverture, dont le périmètre est supérieur à la longueur d'onde $\lambda = v\tau_R$ (v étant la vitesse de propagation de l'onde). La circulation de l'onde d'excitation (réverbérateur) est également possible dans un milieu continu qui n'est pas homogène en ce qui concerne la réfractivité. Si l'on envoie un influx dans une certaine région d'un milieu en forme d'anneau, il ne circulera pas, car les ondes d'excitation se propageant dans le sens des aiguilles d'une montre et dans le sens inverse éteindront l'une l'autre en se rencontrant. Mais si la réfractivité n'est pas partout la même, la circulation aura lieu par suite de la transformation du rythme.

La figure 16.16 montre un milieu inhomogène composé de deux régions à périodes de réfractivité différentes $\tau_{R\,1}$ et $\tau_{R\,2}$. L'intervalle Δt entre deux ondes consécutives a_1 et a_2 est tel que l'onde a_2 ne peut exciter la région à $\tau_{R2} > \tau_{R1}$. Le front de l'onde a_2 se rompt. La « queue » réfractaire est plus longue dans la région *2* que dans la région *1*. La transformation du rythme consiste en disparition du second influx.

Un réverbérateur est engendré lors du contact du front d'onde avec un tissu à l'état de repos. Une telle situation est créée, par exemple, par une onde qui se propage dans le sens contraire (onde b sur la fig. 16.17, *a*). Les ondes a_1 et b s'annulent, alors que l'onde a_2

passe dans le demi-plan droit sous la forme d'un demi-cercle (fig. 16.17, *b*) et puis, après avoir contourné sa « queue réfractaire », retourne dans le demi-plan gauche. Son trajet se referme, un réverbérateur vient de se former (fig. 16.17, *c*).

Dans un milieu homogène la période des ondes envoyées par le réverbérateur est égale à τ_R et le réverbérateur existe pendant un

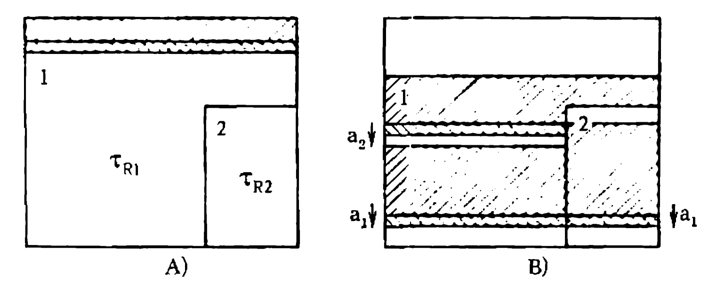


Fig. 16.16. Transformation du rythme en milieu inhomogène à deux dimensions :
A) distribution de la réfractivité ($\tau_{R1} > \tau_{R2}$), *B*) rupture du front d'onde a_2

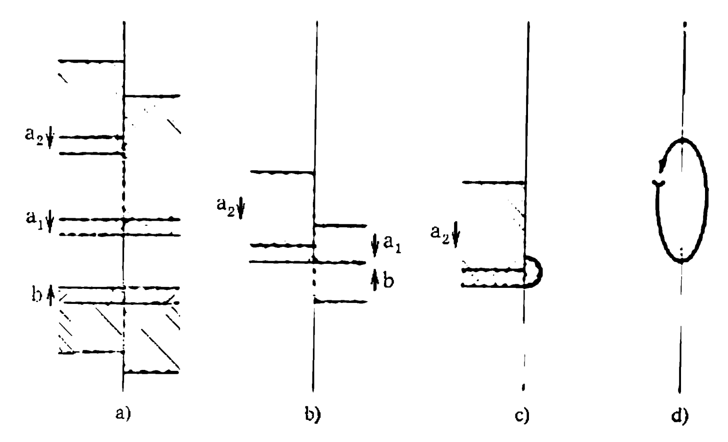


Fig. 16.17. Apparition du réverbérateur dans un milieu inhomogène :
a), *b*), *c*) stades successifs, *d*) réverbérateur

temps illimité. S'il a surgi à la limite séparant deux régions à τ_R différents, sa durée de vie est finie et d'autant plus courte que l'inhomogénéité est plus grande.

Les réverbérateurs peuvent eux-mêmes engendrer des ondes de haute fréquence provoquant l'apparition de nouveaux réverbérateurs. En d'autres termes, les réverbérateurs peuvent se multiplier. Si le milieu n'est pas homogène, les réverbérateurs créent des ondes de fréquences différentes et ne se synchronisent pas. Lorsque les

naissances de nouvelles sources d'ondes sont plus fréquentes que les disparitions, on observe une image complexe pareille à la fibrillation.

Les *échos* constituent une autre source d'ondes. Si l'on envoie quelques impulsions sur une fibre inhomogène en réfractivité, on verra se former, sur l'inhomogénéité, de nouvelles impulsions se propageant le long de la fibre, avant qu'elle retrouve son état de repos. Ces impulsions sont identiques à celles que l'inhomogénéité (considérée comme source d'écho) a réfléchies. On a démontré que l'écho peut se former dans les milieux, pour lesquels $\tau/\tau_R > 0,5$. Le réverbérateur est une source d'impulsions qui peut continuer d'exister dans un milieu à $\tau/\tau_R > 0,5$. Les trajets que l'excitation suit pour passer de la région à τ_R plus petit dans celle à τ_R plus grand, ainsi que dans le sens inverse, sont séparés dans l'espace, mais se rapprochent, quand τ/τ_R augmente, pour se réunir à $\tau/\tau_R = 0,5$. Ainsi, l'écho est un réverbérateur de longueur limite, nulle. L'écho et le réverbérateur se ressemblent en tant que sources d'impulsions; l'un comme l'autre peuvent provoquer la fibrillation dans les milieux excitables inhomogènes.

En électrophysiologie on caractérise l'état du tissu cardiaque à l'aide de ce qu'on appelle *zone de vulnérabilité.* Vulnérabilité veut dire apparition de plus de deux réponses, lorsqu'on envoie deux impulsions sur une bande de myocarde. La largeur de zone est la gamme des intervalles entre les impulsions Δt qui conduisent à la vulnérabilité. Selon Krinski, c'est le paramètre $\tau' = \tau/\tau_R$ qui détermine la vulnérabilité; la zone est d'autant plus étroite que τ' est plus petit.

Dans un milieu excitable inhomogène la source d'ondes surgie, que ce soit un écho ou un réverbérateur, peut servir de stimulus engendrant d'autres sources d'ondes. Si les paramètres du milieu sont tels que la vitesse de « multiplication » des sources n'est pas inférieure à la vitesse de leur disparition, une fibrillation est possible. Quand il y a interaction de plusieurs sources, la durée de la fibrillation croît vite avec τ'. Le nombre minimal de sources pouvant provoquer une fibrillation de durée donnée diminue, lorsque τ' augmente. L'expérience montre que la fibrillation dure longtemps sur une bande de tissu de myocarde, si cette bande est suffisamment grande: il existe donc une certaine *masse critique* pour la fibrillation. Le nombre de sources assurant la fibrillation est un analogue de la masse critique.

Le paramètre sans dimension τ' se trouve donc être une caractéristique importante du milieu excitable, dont dépendent le régime de la fibrillation et sa durée.

Il s'agit de trouver, pour le myocarde, un analogue de la quantité τ exprimant la durée de l'état excité et que l'on pourrait mesurer par des techniques électrophysiologiques. On a choisi comme tel le

temps de réponse à l'impulsion appliquée ou la période latente θ. On sait que la réponse est d'autant plus lente à venir que l'amplitude de l'impulsion est moins grande. La quantité θ dépend du temps t qui sépare la dernière excitation de la cellule de l'instant d'arrivée du stimulus. Il existe un retard maximal θ_{max}: la réponse ne vient pas, si l'amplitude de l'impulsion est sous-liminaire ($A < A_{min}$) et si $t < t_{min}$. Ainsi, la fonction $\theta(t)$ décrit la propagation de l'excitation. Comme le montre l'analyse théorique, à chaque valeur de θ correspondent deux valeurs de la vitesse de propagation de l'excitation. La plus grande valeur caractérise le processus stable de « combustion », la plus petite correspond à un processus instable, un « feu qui couve », qu'on n'observe pas, lorsque les impulsions se suivent périodiquement au régime stationnaire. Quand la succession des impulsions se fait plus fréquente, la plus petite vitesse augmente et la plus grande diminue. Si la fréquence croît encore plus, les deux vitesses deviennent égales en rendant le régime non stationnaire, la périodicité est rompue et certaines impulsions disparaissent.

La formation de réverbérateurs est favorisée, quand le paramètre θ_{max}/τ_R augmente. S'il est supérieur à 0,5, on peut s'attendre à voir surgir des sources d'écho.

La vulnérabilité du myocarde est donc fonction de θ/τ_R. Les produits antiarythmiques, les défibrillateurs, utilisés en médecine, agissent justement sur ce paramètre. Un résultat théorique important intéressant la pratique consiste en ce qu'on a pu trouver des critères physiques des effets antiarythmogènes que l'on peut étudier à l'aide de modèles tissulaires en déterminant leur action sur θ/τ_R. On part des mêmes bases dans l'étude des facteurs provoquant la fibrillation. En effet, on a pu démontrer par voie expérimentale que les substances qui diminuent θ/τ_R ont un effet antiarythmique et que les substances qui augmentent θ/τ_R favorisent les arythmies du cœur, en conformité avec le fait que la diminution de θ/τ_R dans les modèles de milieux excitables entrave la formation des sources d'ondes, échos et réverbérateurs.

Une analyse quantitative détaillée de ces phénomènes a été effectuée à l'aide du modèle de transmission d'excitation dans un système de cellules à couplage électrique. Le comportement du modèle est analysé sur la base de la méthode des portraits de phase.

La théorie de la fibrillation du myocarde qui part des concepts généraux de la physique des systèmes oscillants non linéaires constitue un excellent exemple d'une étude biophysique qui a donné d'importantes applications pratiques. Ici des problèmes de pathophysiologie sont nettement formulés en tant que des problèmes physiques. On peut se rendre compte que l'approche physique des problèmes physiologiques assure une analyse stricte et générale, une bonne justification des conclusions obtenues.

CHAPITRE 17

PROBLÈMES DU DÉVELOPPEMENT BIOLOGIQUE

§ 17.1. Origine de la vie

Nous abordons maintenant les problèmes les plus généraux de la biologie et de la biophysique : les problèmes du développement. On l'a déjà dit, les particularités essentielles des organismes vivants sont déterminées par leur historicité : chaque organisme se développe ontogénétiquement, étant en même temps porteur de la mémoire du développement phylogénétique, évolutif. L'ontogénèse comme la phylogénèse vont dans le sens de la complexité croissante et sont des processus d'apparition et de mémorisation d'information nouvelle, ainsi que, comme nous le verrons, de valorisation de l'information (§ 17.9). L'évolution prébiologique ayant engendré les molécules biologiques et l'évolution biologique sont à considérer en tant qu'une partie de l'évolution de l'Univers.

La première question qui se présente à l'esprit dès qu'on évoque les problèmes du développement est la question relative à l'origine de la vie. Il y a plus de 100 ans Darwin écrivait à Hooker (1863) : « Beaucoup de temps s'écoulera encore avant que nous pourrons voir de nos propres yeux une substance muqueuse, un protoplasma ou encore quelque chose de ce genre produire un être vivant. J'ai, d'ailleurs, toujours regretté d'avoir suivi l'opinion publique en empruntant au Pentateuque le terme « création », dont « tout » proviendrait par voie de processus quelconques que nous ignorons complètement. Raisonner sur l'origine de la vie est aujourd'hui tout simplement une absurdité : autant parler de l'origine de la matière ».

Plus tard Darwin ne considérait plus comme absurde la discussion de l'origine de la vie et donna une réponse nette à la question sur la possibilité de la création de la vie à l'époque actuelle :

« On dit souvent que les conditions pour la genèse d'organismes vivants existent de nos jours comme elles ont toujours existé. Or, même si (oh, qu'il est grand ce « si »!) nous pouvions imaginer un composé protéique apte à des transformations chimiques ultérieures encore plus complexes surgir dans un petit étang riche en toutes sortes de sels ammoniaques et phosphoriques, en lumière, chaleur, électricité, etc., aujourd'hui ce corps serait immédiatement mangé

ou adsorbé, ce qui n'arriverait pas, s'il n'y avait pas encore d'êtres vivants » (1871).

Les conceptions actuelles de l'origine de la vie sont étroitement liées aux résultats de l'étude de l'évolution géologique. Oparin (1924) a été le premier à concevoir une origine abiogène de la vie. Selon son idée, la vie avait été précédée par une évolution chimique. Haldane (1928) a exprimé plus tard des idées semblables. Aujourd'hui elles sont universellement admises.

L'atmosphère primitive de la Terre était réductrice. L'hydrogène est le principal composant du Soleil. Voici la composition du Soleil (en pour cent): H 87, He 12,9, O 0,025, N 0,02, C 0,01. On peut la comparer à celle de l'atmosphère de Jupiter : H 60, He 36, $CH_4 \sim 1$, $NH_3 \sim 0,05$ %. Les météorites les plus anciens contiennent des métaux sous une forme réduite. Selon Miller et Urey, la pression partielle de H_2 dans l'atmosphère archaïque de la Terre s'élevait à $1,5 \cdot 10^{-3}$ atm et celle du méthane CH_4 issu de la réduction du carbone était de $4 \cdot 10^{-3}$ atm. Les autres constituants de l'atmosphère étaient l'ammoniac et l'eau. Ces corps, ainsi que le formaldéhyde H_2CO ont été détectés dans l'espace cosmique.

L'atmosphère contemporaine de la Terre renferme une grande quantité d'oxygène. Cet état des choses n'est observé sur aucune autre planète du système solaire. L'oxygène pouvait résulter d'une photodissociation de l'eau sous l'effet de la radiation ultraviolette à ondes courtes du Soleil et de la photosynthèse. Comme l'a démontré Bütner (1961), la photodissociation avait dû fournir d'importantes quantités d'oxygène. Mais l'oxygène atmosphérique primaire fut consommé pour oxyder les métaux. On considère généralement que l'oxygène atmosphérique a, principalement, une origine biogène, photosynthétique. Pourtant, le bilan précis n'a jamais été calculé.

Ainsi, des organismes à photosynthèse (*autotrophes*) devaient apparaître sur la Terre à l'époque où son atmosphère était réductrice. Qui plus est, si les cellules n'avaient pas atteint un état hautement organisé et protégé, l'oxygène atmosphérique aurait empêché tout développement de la vie en oxydant les composés chimiques, dont devaient provenir les molécules biologiquement fonctionnelles. L'existence, à l'époque actuelle, des bactéries anaérobies, de la glycolyse anaérobie témoigne de ce que la vie naissait dans une atmosphère à caractère réducteur. Ainsi, l'existence même de la vie fournit une preuve de l'origine biogène de l'atmosphère oxydée contemporaine de la Terre. La géologie et la biologie sont intimement liées entre elles.

Les composés organiques devaient se former dans les conditions réductrices en présence de sources d'énergie. Ces sources étaient la radiation ultraviolette du Soleil, l'émission radioactive de la Terre (avant tout, la désintégration β de ^{40}K), ainsi que les décharges

électriques dans l'atmosphère et la chaleur volcanique. Le tableau 17.1 rassemble les estimations relatives à la quantité d'énergie fournie à la Terre par toutes ces sources.

Des expériences variées prouvent la possibilité de la synthèse de composés organiques monomères dans les conditions simulant la

Tableau 17.1

Sources possibles d'énergie pour l'évolution chimique primaire (en kJ par an et par m²)

Radiation solaire totale	10 900 000
Radiation ultraviolette à 300-250 nm	119 000
Idem à 250-200 nm	22 000
Idem à 200-150 nm	1 650
Idem à < 150 nm	71
Décharges électriques	
En couronne	126
Foudres	42
Radioactivité naturelle jusqu'à 1 km de profondeur, il y a $4 \cdot 10^9$ ans	117
Ondes de choc et de pression dans l'atmosphère	46
Vent solaire	8
Chaleur volcanique	6
Rayons cosmiques	0,06

situation sur une Terre à atmosphère réductrice. Miller (1955) faisait passer des décharges électriques silencieuses à travers des mélanges de méthane, ammoniac, hydrogène et vapeur d'eau. Cela donnait un mélange d'acides aminés racémiques, d'acides carboxyliques, d'aldéhydes et de cyanure d'hydrogène HCN. Térénine (1958) obtenait des corps organiques en irradiant un mélange de CH_4, NH_3, H_2, H_2O à l'aide d'une lumière ultraviolette à ondes courtes. Des acides aminés se forment également par synthèse thermique, quand on fait passer un tel mélange à travers un tube porté à quelque 1000 °C. Des acides aminés résultent du bombardement du mélange de CH_4, NH_3 et H_2O à l'état solide par des électrons d'énergie 5 MeV. Dans ces conditions on voit également surgir de l'adénine. L'adénine et la guanine se forment à partir de HCN soumis à une radiation ultraviolette. Le formaldéhyde fournit des sucres, dont le ribose et le désoxyribose. Des nucléosides triphosphates sont synthétisés lors de l'irradiation ultraviolette d'une solution diluée d'adénine, ribose et acide phosphorique. Il a été démontré de façon générale que les monomères des macromolécules informationnelles de protéines et d'acides nucléiques avaient pu se former par synthèse dans l'atmosphère réductrice primaire de la Terre. HCN sert de source de purines et de

pyrimidines, ainsi que de porphyrines (v. p. 37). Des aminoacides et autres substances organiques ont été trouvés dans les rochers et les roches sédimentaires les plus anciens et même dans les météorites. Ces substances sont absentes sur la Lune.

Moukhin a supposé que les volcans sous-marins constituaient une bonne source de l'énergie nécessaire pour la synthèse de composés organiques monomères. Selon le tableau 17.1, le volcanisme ne fournit qu'une petite fraction de l'énergie utilisée pour la synthèse de la matière organique primaire, si on la rapporte à toute la surface terrestre. Mais en faisant l'hypothèse que la synthèse de la matière organique est déterminée par les événements locaux, le rôle du volcanisme peut être très considérable. Il ne faut pas oublier que les volcans sous-marins sont beaucoup plus nombreux que les terrestres. Moukhin a constaté la présence de HCN et de substances organiques dans la matière émise par les volcans; il a mis en évidence la formation de ces composés dans des expériences sur modèle (1974).

Nous avons de bonnes raisons pour croire que la synthèse de composés organiques monomères dans des conditions éloignées de l'équilibre fut le premier stade de l'évolution prébiologique. Le stade suivant aurait dû consister dans la polymérisation et la polycondensation des monomères, dans la formation des chaînes polypeptidiques et polynucléotidiques. Là on voit se poser plusieurs problèmes.

Tout d'abord, un système chimique susceptible de l'évolution (d'un développement ordonné) ne peut être qu'autocatalytique, apte à l'autoreproduction. Ensuite, toutes les macromolécules ne peuvent pas être précurseurs de systèmes vivants: il ne peut s'agir que de celles qui possèdent des propriétés informationnelles requises. Des mécanismes de sélection doivent exister dès cette étape de l'évolution prébiologique. Comme nous le verrons, il faut que l'évolution darwinienne se réalise déjà au stade prébiologique du développement. Le problème général consiste en naissance d'information, en création d'un ordre à partir du désordre.

Fox a étudié par voie expérimentale (1966-1968) l'auto-organisation dans les chaînes polypeptidiques formées par polycondensation thermique des mélanges équimolaires de 18 acides aminés canoniques (à l'exception de Asp et Glu). On y voit se former des chaînes de composition irrégulière, des polypeptides synthétiques que Fox a baptisés *protéinoïdes*. Ces composés possèdent une activité catalytique semblable à celle des enzymes; à l'aide de ces substances on a réussi à réaliser des réactions d'hydrolyse, de décarboxylation, d'amination et de désamination. Mais on ne leur a trouvé aucune activité polymérasique.

Les protéinoïdes sont capables de former des *microsphères*, si l'on a bien choisi le milieu. On voit se produire une *compartimentation* du système protéinoïde, séparé de la solution par une enveloppe membranoïde. Fox considère ces microsphères comme des modèles

prébiotiques de la cellule. Avant lui Oparin avait émis l'hypothèse que la compartimentation des polymères primaires consistait en formation de *coacervats*. La coacervation est un phénomène connu en chimie colloïdale : il s'agit de la séparation de la solution et du soluté. Dans ce sens les microsphères de Fox sont analogues aux coacervats d'Oparin. Quoi qu'il en soit, la compartimentation devait surgir à un des stades précoces de l'évolution prébiologique.

Après les stades de formation de monomères et de polymères, après la compartimentation ou parallèlement à elle il fallait que s'établisse l'interaction catalytique des systèmes polynucléotidiques et polypeptidiques. Le passage à l'évolution biologique serait lié à l'apparition du code génétique.

On n'a pas encore la possibilité de créer expérimentalement, par voie abiogène, un système vivant. Le rêve des alchimistes — créer *in vitro* un homuncule, un petit homme artificiel — est loin de se réaliser. Mais la science est aujourd'hui à même de construire de bons modèles physiques de l'évolution prébiologique et biologique.

§ 17.2. Simulation de l'évolution prébiologique

Nous allons exposer le modèle de l'auto-organisation des macromolécules proposé par Eigen en 1971.

L'*auto-organisation* et la *sélection* sont possibles, lorsque le système moléculaire abiogène considéré est caractérisé par le métabolisme, l'autoreproduction et la mutabilité. Ce sont trois conditions *sine qua non*. Le métabolisme implique que le système est ouvert et qu'on y observe une polymérisation, ainsi que la décomposition de polymères. Le système étant loin de l'équilibre, ces deux processus ne sont pas liés entre eux par la condition de réversibilité microscopique. Pour maintenir le métabolisme, il faut qu'il y ait apport d'une substance possédant un excès d'énergie libre : pour les acides nucléiques ce sont les nucléosides triphosphates. L'autoreproduction — reproduction du polymère à l'aide d'une matrice — suppose un processus autocatalytique. Comme nous l'avons montré dans les chapitres 15 et 16, l'autocatalyse peut assurer l'auto-organisation. Enfin, la mutagénèse est nécessaire pour créer une information nouvelle.

On peut dire qu'un tel système est darwinien, si on lui a imposé quelques contraintes, telles que la condition d'organisation constante (concentration totale constante des monomères énergisés et celle de toutes les espèces de polymères). Pour réaliser cette constante, il faut bien ajuster l'écoulement des monomères et des polymères.

La doctrine darwinienne s'est vu opposer un argument qui paraissait de poids : la sélection naturelle suppose la survie des mieux adaptés. Mais le critère de l'adaptation est la survie. La théorie de Darwin serait donc un cercle vicieux, une tautologie parlant de la survie des survivants.

En réalité les critères d'adaptation, auxquels correspond la plus grande survie de la descendance, sont tout à fait objectifs; ils sont déterminés par les conditions du milieu. Ces conditions sont traduites dans le modèle d'Eigen par les contraintes telles que la condition d'organisation constante ou, dans une autre version, la condition de flux constants.

Le modèle mathématique d'Eigen s'écrit comme suit. Soient n espèces différentes de polymères caractérisées par les concentrations x_i $(i = 1, 2, \ldots, n)$. Chaque espèce est susceptible de métabolisme, d'autoreproduction et de mutagénèse. Les équations cinétiques sont de la forme

$$\dot{x}_i = (A_iQ_i - D_i)\, x_i + \sum_{j \neq i} \varphi_{ij}x_j + \frac{\Phi_0 x_i}{\sum\limits_{j=1}^{n} x_j}. \tag{17.1}$$

Ici $A_iQ_ix_i$ décrit la formation du polymère x_i par autoreproduction, D_ix_i étant la décomposition du polymère. Le premier terme exprime le métabolisme et l'autoreproduction. Le deuxième terme décrit les mutations: l'espèce de polymères i reçoit des copies supplémentaires par suite des erreurs correspondantes dans l'espèce j. La présence de mutations est aussi exprimée par le *facteur de qualité* Q_i. $Q_i = 1$ correspond à une reproduction sans erreurs, $1 - Q_i$ est une mesure des erreurs. On voit donc se vérifier la loi de conservation

$$\sum_{l=1}^{n} A_l (1 - Q_l)\, x_l = \sum_{l=1}^{n} \sum_{j \neq l} \varphi_{lj}x_j. \tag{17.2}$$

Enfin, l'expression (17.1) contient le flux total Φ_0. On fait l'hypothèse que les macromolécules i quittent le système ou y viennent de façon proportionnelle: x_i/n, où $n = \sum\limits_{j=1}^{n} x_j =$ const. Il peut y avoir, en outre, dilution par afflux du solvant.

La constance de l'organisation générale est donnée donc par les conditions

$$A_iQ_i = \text{const}, \quad \sum_{j=1}^{n} x_j = n = \text{const}. \tag{17.3}$$

La conservation des copies erronées (17.2)

$$\sum_{l=1}^{n} A_l (1 - Q_l)\, x_l = \sum_{l=1}^{n} \sum_{j \neq l} \varphi_{lj}x_j.$$

On peut donc écrire

$$\sum_{j=1}^{n} (A_j - D_j)\, x_j \equiv \sum_{j=1}^{n} E_jx_j = -\Phi_0, \tag{17.4}$$

car $\sum \dot{x}_j = 0$. Le flux Φ_0 compense la production de toutes les macromolécules. Les équations (17.1) sont ramenées aux équations

$$\dot{x}_i = (W_i - \overline{E}\,(t))\, x_i + \sum_{j \neq i} \varphi_{ij}x_j, \tag{17.5}$$

où

$$W_i = A_iQ_i - D_i \ (valeur\ sélective), \qquad (17.6)$$

$$\overline{E}(t) = \sum_{j=1}^{n} E_j x_j \Big/ \sum_{j=1}^{n} x_j = -\frac{\Phi_0}{n} \ (productivité\ moyenne). \qquad (17.7)$$

Les équations (17.5) sont non linéaires, étant donné que $\overline{E}(t)$ renferme tous les x_i. Ce terme exprime l'écoulement glissant et autoréglable d'auto-organisation. On voit croître le nombre des macromolécules, dont les valeurs sélectives W_i sont supérieures à la valeur de seuil $\overline{E}$, soit $W_i - \overline{E} > 0$. L'augmentation de leur nombre déplace le seuil $\overline{E}$ dans le sens des valeurs croissantes jusqu'à ce que soit atteinte la valeur optimale de $\overline{E}$, égale à la valeur sélective maximale W_m de toutes les espèces présentes:

$$\overline{E} \to W_m. \qquad (17.8)$$

Le système tendra donc vers l'état d'« *équilibre de sélection* » qui est, cependant, instable. Cet équilibre se rompra dès l'apparition, grâce à des mutations, d'une nouvelle copie possédant une valeur sélective encore plus élevée, i.e. correspondant à la condition $W_{m+1} > W_m$. Dans ce cas le système passera dans un nouvel état d'équilibre et ainsi de suite. L'optimisation de ce genre peut être non monotone, car le maximum de la valeur sélective W_m dépend de chaque distribution donnée des concentrations x_i qui caractérise l'état du milieu.

Il est évident que toute mutation faisant croître la valeur sélective correspond à une fluctuation négative de la production d'entropie: accroissement d'ordre, accroissement d'information. C'est un témoignage de l'instabilité de l'état stationnaire existant.

Ainsi, les équations cinétiques sont écrites, (17.5), il faut les résoudre. Pour commencer, essayons de comprendre qualitativement le sens du modèle d'Eigen.

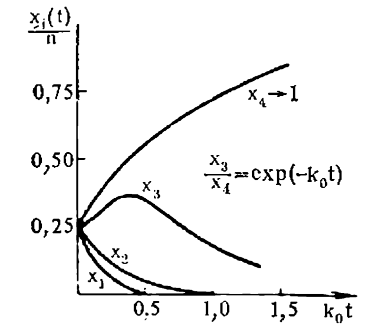


Fig. 17.1. Sélection dans le système de quatre espèces compétitives: $W_1 = 1$, $W_2 = 4$, $W_3 = 9$, $W_4 = 10$

On peut se représenter le système en question comme enfermé dans une boîte à parois semi-perméables (qui laissent passer les monomères et les molécules du solvant, mais arrêtent les polymères). A l'intérieur de la boîte on voit se produire la polymérisation, la réplication matricielle des macromolécules et leur décomposition. Les macromolécules ayant la meilleure valeur sélective sont répliquées le plus vite: leur nombre doit croître à l'intérieur de la boîte aux dépens des autres macromolécules qui « meurent ». Cette représentation est entièrement corroborée par le calcul sur ordinateur. La figure 17.1 montre le comportement de quatre espèces compétitives de macromolécules à valeurs différentes de W_i. Ne « survivent » que les chaînes, dont la valeur sélective est la plus grande.

Il est possible de donner aux équations (17.5) la forme

$$\dot{\xi}_i(t) = (\lambda_i - \overline{E}(t))\, \xi_i(t), \qquad (17.9)$$

où $\overline{E}(t)$ est défini dans (17.7), ξ_i sont les « modes normaux »: combinaisons linéaires de x_i. Il vient

$$n = \sum_{j=1}^{n} x_j = \sum_{l=1}^{n} \xi_l = \text{const} \qquad (17.10)$$

et

$$\overline{E}(t) = \sum_{l=1}^{n} \lambda_l \xi_l(t)/n. \qquad (17.11)$$

La solution du système (17.9) à $t \to \infty$ a les caractéristiques suivantes. Tous les ξ_l, pour lesquels $\lambda_l < \overline{E}(t)$, s'approchent de zéro en déplaçant continûment le seuil de sélection $\overline{E}(t)$ en conformité avec (17.11) pour ne laisser, au bout du compte, qu'une seule « *quasi-espèce* » (ordinairement « le type sauvage » plus la distribution des mutants) caractérisée par la valeur propre maximale $\lambda_{\max}$. La sélection est définie par le principe d'extrémum

$$\overline{E}(t) \to \lambda_{\max}.$$

La « quasi-espèce » diffère de l'« espèce » de concentration x_m par ce qu'elle renferme non seulement la forme dominante (« *copie principale* »), mais aussi tous ses mutants: le mode normal ξ_m correspondant à $\lambda_{\max}$ est la combinaison linéaire des concentrations x_m et des concentrations de tous les mutants x_m. La contribution de x_m à ξ_m est prédominante.

Considérons l'importance des mutations, le facteur de qualité Q_i. La productivité moyenne (17.7) peut être présentée sous la forme

$$\overline{E} = \frac{1}{n}\Big(E_m x_m + \sum_{l\neq m} E_l x_l\Big) = \overline{E}_{l\neq m} + \frac{x_m}{n}(E_m - \overline{E}_{l\neq m}), \qquad (17.12)$$

où

$$\overline{E}_{l\neq m} = \sum_{l\neq m} E_l x_l \Big/ \sum_{l\neq m} x_l = \sum_{l\neq m} E_l x_l/(n - x_m).$$

La condition d'équilibre de sélection $\overline{E} = W_m$ fournit la « fraction d'équilibre » de l'espèce sélectionnée, i.e. sa survie relative

$$\frac{x_m}{n} = \frac{W_m - \overline{E}_{l\neq m}}{E_m - \overline{E}_{l\neq m}}. \qquad (17.13)$$

La fraction stationnaire des chaînes « incorrectes » (ayant subi une mutation) $1 - x_m/n$ est proportionnelle à $1 - Q_m$:

$$1 - \frac{x_m}{n} = \frac{E_m - W_m}{E_m - \overline{E}_{l\neq m}} = \frac{A_m - D_m - A_m Q_m + D_m}{E_m - \overline{E}_{l\neq m}} \equiv \frac{A_m(1 - Q_m)}{E_m - \overline{E}_{l\neq m}}. \qquad (17.14)$$

Lorsque $Q_m = 1$, on a $x_m = n$: dans ce cas on verrait sélectionner toutes les « copies principales », mais ensuite l'évolution cesserait. Les mutations sont nécessaires pour l'évolution: il faut avoir une valeur de Q_m inférieure à 1, mais supérieure à un certain $Q_{\min}$. La valeur de $Q_{\min}$ est tirée de la condition $x_m =$

$= 0$, soit, conformément à (17.13), $W_m = \overline{E}_{l\neq m}$. On a

$$1 > Q_m > Q_{\min} = \frac{D_m + \overline{E}_{l\neq m}}{A_m} = \varepsilon. \qquad (17.15)$$

Le facteur de qualité Q est déterminé par la fidélité de la reconnaissance du monomère lors de la réduplication matricielle. Si la reconnaissance d'un chaînon donné est indépendante de la reconnaissance des autres chaînons (si la reconnaissance n'est pas coopérative), la probabilité de formation d'une copie correcte à ν chaînons s'écrit

$$Q = q^{\nu}, \qquad (17.16)$$

où q est la probabilité de la reproduction fidèle d'un motif. En comparant (17.16) à (17.15), on trouve

$$\nu_{\max} < \frac{\ln \varepsilon}{\ln q} \approx \frac{\ln \varepsilon}{1-q}, \qquad (17.17)$$

car pour q proche de 1, $\ln q \approx 1 - q$. L'inégalité (17.17) est la condition de seuil qui établit la limite supérieure pour la quantité d'information contenue dans un système autoreproductible stable.

§ 17.3. Modèles de jeux et aspects informationnels de l'auto-organisation

Le problème principal que résout la théorie d'Eigen est celui de la formation d'une structure ordonnée à partir du chaos initial : c'est le problème de la création d'information. Comme nous l'avons vu, l'apparition d'un ordre, sa sélection et son maintien sont possibles dans un système autocatalytique (matriciel) ouvert se trouvant loin de l'équilibre.

Il est difficile d'imaginer une auto-organisation fortuite du chaos avec déclenchement d'une évolution irréversible. En effet, le nombre de chaînes polynucléotidiques différentes longues de $\nu = 100$ chaînons et comportant quatre nucléotides s'élève à $4^{100} \approx 10^{60}$. Un choix accidentel de la chaîne ayant une structure primaire déterminée est irréalisable, car sa probabilité est infiniment petite.

Même les physiciens éminents (Wigner) concluaient, négligeant l'autoreproduction matricielle, à l'impossibilité de l'auto-organisation prébiologique qui leur semblait contraire aux principes de base de la physique. Nous savons que cette contradiction n'est qu'apparente. Dans le système modélisé par Eigen l'auto-organisation est possible. Nous utiliserons des modèles de jeux pour montrer, comment l'ordre surgit du désordre.

Examinons le modèle de P. et T. Ehrenfest (1907). Soit un échiquier, sur lequel on a disposé, de façon arbitraire, des pions du jeu de dames noirs et blancs qui occupent toutes les cases. On a deux dés octaédriques, dont l'un porte les numéros des rangées horizontales de 1 à 8 et l'autre les lettres qui correspondent aux verticales (a à h). La règle du jeu : après avoir jeté les deux dés, on remplace le pion,

dont on a obtenu les coordonnées, par un pion de l'autre couleur. Le résultat ne dépend pas de la distribution initiale : après un nombre de coups suffisamment élevé on aura sur l'échiquier des quantités à peu près égales de pions noirs et blancs. Ce nombre qui correspond à une génération est égal à 64. Le jeu d'Ehrenfest simule l'établissement de l'équilibre. La distribution de probabilité est gaussienne, avec le maximum à $N/2 = 64/2$. Dans ce jeu la limitation des fluctuations est très nette. S'il y a un écart à la distribution d'équilibre, la probabilité de la diminution de cet écart augmente proportionnellement à l'écart. Le système est autoréglable dans ce sens qu'il retrouve son équilibre stable. C'est la loi générale du comportement du système au voisinage de l'équilibre.

Modifions les règles du jeu : le pion que les dés ont montré n'est plus remplacé, on le double avec n'importe quel pion de l'autre couleur. Dans ce cas la distribution uniforme est instable : si, à l'état initial, on avait 32 pions blancs et 32 pions noirs, il ne restera, après près de 64 coups, que des pions d'une même couleur. Dans ce cas un écart fortuit à la distribution uniforme est amplifié et détermine le sort du système. Ici l'ordre naît du désordre, mais non pas du fait d'un avantage sélectif d'une des deux couleurs, mais par suite d'un surplus accidentel d'une des populations. Le jeu simule « la survie des survivants », mais non pas l'évolution darwinienne (v. p. 564).

Le troisième jeu simule le comportement intermédiaire entre le stable et l'instable. C'est le jeu de « promenade désordonnée ». Cette fois-ci on jette non plus des dés, mais une pièce de monnaie. Si la pièce présente la face, on remplace un pion noir quelconque par un blanc ; si c'est pile, on fait l'inverse. L'indétermination de l'événement élémentaire peut influer directement sur la distribution macroscopique. Le système oscillera de façon désordonnée entre deux cas extrêmes (tous les pions noirs ou tous les pions blancs).

Les valeurs de la probabilité pour les cas extrêmes indiqués montrent la différence qui existe entre les trois jeux. Dans le cas de la « promenade désordonnée » il faut en moyenne 32 générations ($32^2 \approx \approx 1000$ coups) pour remplir l'échiquier de pions uniquement noirs ou uniquement blancs, si la distribution initiale a été uniforme. Dans le second jeu cet état s'établit après une génération (64 coups). Enfin, dans le jeu d'Ehrenfest il faut près de 10^{19} coups pour obtenir l'état extrême, car la probabilité de cet état est $(1/2)^{64} \approx 10^{-19}$.

Ces jeux ne présentent aucune condition de sélection : ils ne comportent ni métabolisme, ni autoreproduction (autocatalyse), ni mutations. Eigen a proposé le modèle de « *jeu de grains de verre* » pour expliquer la théorie qu'il a proposée.

On dispose de grains de verre de quatre couleurs différentes — bleus, jaunes, verts et rouges — placés sur un échiquier. On considère la « naissance » et la « mort » comme deux processus indépendants.

La «mort » est simulée par le jeu d'Ehrenfest: on enlève le grain de la case indiquée par les dés jetés. Le résultat du coup suivant correspond au second jeu en simulant la « naissance »: on double le grain de la case échue, le deuxième grain étant placé dans la case libérée lors du coup précédent. La « mort » et la « naissance » alternent, le nombre total des grains demeurant invariable (64). Introduisons dans le jeu des avantages sélectifs. Si le coup de deux dés octaédriques répond à une « naissance », on jette encore un dé ordinaire cubique et on double le grain bleu dans tous les cas; le grain rouge est doublé, si l'on voit échoir 1, 2, 3, 4, 5, mais non pas six points; le grain jaune est doublé à 1, 2, 3 et 4 points et le vert à 1, 2 et 3 points. Ainsi, la probabilité de la « multiplication » est la plus élevée pour les grains bleus et la moins élevée pour les verts. Notons qu'en phase de « naissance » les dés sont jetés jusqu'à ce qu'il devienne possible de doubler le nombre de grains: cette condition simule la régulation en maintenant constant le nombre total de grains.

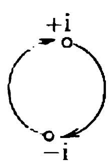
Ce jeu est un modèle de l'évolution darwinienne. Il est évident que seuls les grains bleus « survivront » finalement en occupant toutes les cases de l'échiquier. On l'a démontré par calcul sur ordinateur. Cependant, ce jeu ne comporte pas de mutations. Pour en tenir compte, considérons une version modifiée du jeu. On n'a que deux espèces de grains: bleus et jaunes. Les bleus doublent quatre fois plus vite que les jaunes. Attribuons aux grains bleus une certaine probabilité de reproduction erronée, quand un grain bleu se voit remplacer par un grain jaune. Les jaunes se multiplient, par contre, sans erreurs: la probabilité de voir un grain bleu remplacer un grain jaune est tellement petite qu'on peut la négliger. Le calcul pour les probabilités de l'erreur valant 0, 25, 50 et 75 % fait voir que les grains bleus disparaissent dans les deux derniers cas; quand l'erreur vaut 25 %, leur nombre est supérieur, en moyenne, à celui des jaunes, mais ces derniers ne disparaissent pas; si la reproduction est fidèle, les grains bleus se substituent vite aux jaunes. Il existe donc un certain seuil du taux d'erreurs, au niveau duquel la multiplication des grains bleus est encore favorisée.

Quand un certain ordre apparaît dans ces jeux, cela veut dire qu'une information a été créée: c'est la mémorisation d'un choix accidentel au niveau macroscopique (v. § 9.1). Dans le modèle d'Eigen décrit au § 17.2 nous avons eu affaire à la séparation de l'information déjà présente des bruits qui la dissimulaient, ainsi qu'à la création d'une information nouvelle. Le premier phénomène est simulé en attribuant *a priori* la valeur sélective maximale aux « copies principales », le second par l'apparition de nouvelles « copies principales » par mutations. Ainsi, l'optimum $\vec{E} \rightarrow W_m$ correspond à la mise en évidence de l'information existante et le déplacement $W_m \rightarrow W_{m+1}$ à la création d'une information nouvelle.

L'information séparée et créée reste dans le système : on dit que le système « mémorise » cette information. La mémorisation d'information est un processus irréversible et non équilibré. On voit qu'un système en développement est simultanément créateur et récepteur d'information : la « mémorisation » incombe au récepteur (v. § 17.9). La « mémorisation » est caractéristique des systèmes dissipatifs. Un système voisin de l'équilibre « ne se souvient pas » des écarts accidentels à l'équilibre, des fluctuations. Par contre, un système dissipatif peut posséder une mémoire dans ce sens qu'il est capable de retenir un choix fortuit : créer et recevoir l'information.

§ 17.4. Hypercycles

Revenons au modèle d'Eigen. Pour le rapprocher de la nature, nous poserons que les macromolécules ne sont pas autoreproduites, mais synthétisent des chaînes complémentaires. Le système est décrit par l'alternance des copies « plus » et « moins » ($+i$ et $-i$). La sélection porte sur les collectifs $\pm i$, représentés par les cycles



Cela n'affecte aucunement la théorie.

Cependant, la sélection naturelle parmi ces cycles ne peut conduire à la formation des macromolécules longues sélectionnées. Premièrement, la probabilité q d'introduction correcte d'un monomère dans la chaîne polynucléotidique (v. p. 568) ne dépasse pas 0,99. Par conséquent, déjà à $\nu = 100$ on a $Q = q^{\nu} = (0{,}99)^{100} = 0{,}36$. Deuxièmement, la valeur sélective exprimée par la quantité W_i ne corrèle pas de façon univoque avec la structure primaire de la chaîne. La chaîne peut présenter des mutations et la synthèse matricielle peut comporter des erreurs, sans que le paramètre W_i varie. La réduplication matricielle est fondée sur la reconnaissance des unités isolées et de leurs voisins immédiats. Alors, par exemple, la double substitution par mutation

... CABBD ... CACBD ... → ... CACBD ... CABBD ...

ne se répercutera pas sur la valeur de W_i, i.e. sur la vitesse de la synthèse de la chaîne entière.

Une double mutation est, certainement, peu probable. Le remplacement unique d'un chaînon fait varier W_i, mais, quand les chaînons sont nombreux, cette variation s'avère très faible. La variation relative de la vitesse de synthèse matricielle due à la substitution

d'un seul chaînon est de l'ordre de ν^{-1}. Supposons qu'une substitution a fait croître la valeur sélective W_i d'une petite quantité de cet ordre de grandeur. La sélection demande du temps. Si, pendant la période de survie favorisée des copies principales, une seconde mutation survient en redonnant à W_i son ancienne valeur, une nouvelle copie principale n'apparaîtra pas. La quantité W_i n'exprime donc pas la *valeur réelle de l'information* en cas de reproduction simple ou complémentaire.

Aussi petites que soient les probabilités des mutations, au bout d'un temps suffisamment long le système accumulera des chaînes dégénérées quant à la valeur de W_m, mais à structures primaires différentes. Si les chaînes sont longues, le nombre de ces macromolécules dégénérées sera élevé. Au bout du compte, à l'état le plus probable du système correspondra la diversité maximale des structures primaires des chaînes à mêmes valeurs de W_m. On voit donc que l'équilibre de sélection est non seulement instable, mais de plus voué à dégénérer.

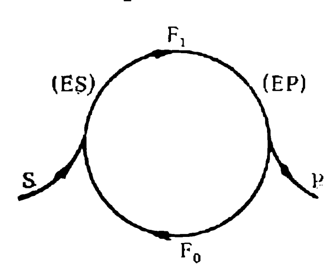


Fig. 17.2. Cycle dans un processus enzymatique

L'évolution des macromolécules implique un système autocatalytique utilisant l'information de la chaîne: reproduit par reconnaissance non pas des unités isolées, mais de la structure primaire de la chaîne entière ou de sa partie considérable.

L'exposé qui précède se rapportait aux chaînes polynucléotidiques. On voit que les chaînes tant soit peu longues (selon Eigen, à $\nu > 100$) n'évoluent pas d'elles-mêmes.

Les macromolécules protéiques renferment plus d'information que les polynucléotides correspondants, car elles possèdent diverses structures tertiaires (et quaternaires). Mais les protéines ne sont pas susceptibles de l'autocatalyse, de l'autoreproduction. Bien que leur information soit riche, sa valeur sélective est petite.

Eigen aboutit à la conclusion que l'évolution nécessite un hypercycle autocatalytique constitué de cycles polynucléotidiques élémentaires $\pm i$ (p. 571) avec intervention catalytique des protéines synthétisées par ces mêmes polynucléotides.

Considérons une suite de réactions où les produits de chaque étape précédente sont soumis à une transformation. Lorsque, dans une telle suite, un produit coïncide avec un réactif de l'étape précédente, le système forme un cycle réactionnel servant, tout entier, de catalyseur. Au fond, nous avons déjà rencontré un cycle catalytique en parlant des réactions enzymatiques (fig. 17.2). Un autre exemple est le cycle de citrate ou cycle de Krebs (p. 444).

L'hypercycle catalytique d'Eigen est constitué de porteurs d'in-

formation — cycles polynucléotidiques I_1, I_2, . . ., I_n — qui instruisent leurs propres reproduction et traduction lors de la synthèse des enzymes E_j qui remplissent la fonction des polymérases en servant de catalyseurs pour la reproduction de chaque porteur d'information suivant I_{j+1} (fig. 17.3).

Les hypercycles utilisent toute l'information des chaînes polynucléotidiques ou, au moins, sa plus grande partie. Un hypercycle a les caractéristiques suivantes:

1. Il assure une coexistence stable et contrôlée de toutes les espèces réunies par les liaisons cycliques.

2. Il assure une croissance cohérente de tous ses constituants.

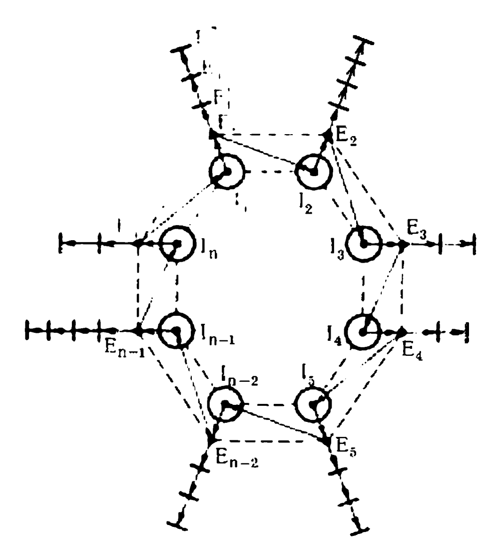


Fig. 17.3. Hypercycle catalytique auto-instruit:
I_j — porteurs d'information (cycles $\pm$ j d'ARN); E_j – enzymes codés par I_j et catalysant la formation des porteurs I_{j+1}; E'_j, E''_j — enzymes catalysant les processus parasites

3. L'hypercycle fait concurrence à toute unité réplicative isolée qui n'appartient pas au cycle.

4. L'hypercycle peut s'agrandir ou se réduire, si cette variation fournit un avantage sélectif.

5. Les hypercycles peuvent former des réseaux d'ordre supérieur.

6. Les hypercycles sont en compétition les uns avec les autres. Les liaisons internes et les propriétés coopératives d'un hypercycle peuvent se développer en une fonction optimale. Les avantages « phénotypiques », i.e. les variations qui assurent un avantage direct au mutant, se stabilisent immédiatement. D'autre part, les avantages « génotypiques » qui favorisent l'apparition du produit suivant, ont

besoin d'une séparation dans l'espace pour la fixation compétitive.

Les avantages sélectifs des hypercycles sont toujours des fonctions de l'effectif de la population par suite de la non-linéarité. Voilà pourquoi, une fois formé, un hypercycle se prête mal à la substitution par un autre, car toute espèce nouvelle apparaît toujours dans un petit nombre de copies. L'information qu'un hypercycle a fixée est difficilement perdue.

Des calculs numériques sur modèle illustrent ces propriétés des hypercycles. Les portraits de phase des hypercycles contenant un nombre suffisant de maillons présentent des cycles limites. Tous les constituants d'un hypercycle y coexistent en subissant des oscillations non linéaires correlées. Cela assure la stabilisation mutuelle des constituants.

La théorie d'Eigen a été confrontée aux expériences d'« évolution dans un tube à essai » de Spiegelman (1965-1971) et de Weissmann (1976). Ces expériences portaient sur les mutants du phage $Q\beta$. La théorie d'Eigen simule bien leur sélection.

Comment les hypercycles qui sont déjà des systèmes assez complexes avaient-ils pu se former? C'est au fond la question principale qui se pose à propos de la théorie d'Eigen. Selon Eigen et Schuster, la première structure autoreproductible qui pouvait contenir une information de façon stable était une molécule de type ARNt, constituée par près de 100 nucléotides. Cette hypothèse avait déjà été faite par Kuhn en 1972 (v. § 17.5). Ces molécules de « proto-ARNt » étaient sélectionnées comme une quasi-espèce. Elles résistaient à l'hydrolyse grâce au fait de posséder non seulement une structure secondaire, mais aussi une structure tertiaire (p. 287). Cette structure fixait la chiralité. Il avait fallu plusieurs molécules de ce type, à fonctions analogues, mais de spécificité différente, pour former le système de traduction. Un tel système avait pu provenir d'une seule quasi-espèce, mais les partenaires équivalents avaient dû se développer simultanément. Cela est impossible à réaliser, si ces molécules se réunissent en une macromolécule autoreproductible plus grande, vu l'existence d'un seuil d'erreurs. Cela ne peut également se faire par compartimentation à cause d'une concurrence violente à l'intérieur du compartiment. Le processus n'est donc possible que par établissement de liaisons fonctionnelles entre toutes les unités. Ces liaisons doivent tolérer la compétition avec les copies incorrectes, car autrement l'information ne pourrait se conserver. Ces liaisons doivent « suspendre » la compétition entre les unités appelées à s'intégrer dans un nouveau système fonctionnel et assurer leur coopération. Enfin, un système fonctionnel intégré doit être compétitif vis-à-vis de tous les autres systèmes moins efficaces. Ces trois conditions ne sont remplies que dans les hypercycles.

Aux premiers stades de l'évolution, caractérisés par une réplication et une traduction peu fidèles et par une petite quantité d'uni-

tés permettant une réplication efficace, l'organisation hypercyclique présente des avantages considérables.

Eigen et Schuster proposent des modèles concrets pour l'apparition du code génétique. Ainsi, selon leurs arguments, les structures primaires riches en HC favoriseraient le début de la traduction. La traduction naissait grâce à la présence d'une quantité suffisante de protéinoïdes (v. p. 563). Une fois formé, le système de traduction pouvait s'améliorer, mais il ne tolérait aucun autre système de traduction à configuration alternative. C'est ainsi que se créait et se perfectionnait le code génétique unique. Les stades suivants de l'évolution sont liés à la compartimentation et à la recombinaison génétique, le facteur de qualité Q et le nombre maximal de motifs des chaînes fonctionnelles ν_{max} augmentant au cours de l'évolution.

Ces considérations sont résonnables, mais la théorie d'Eigen laisse ouvert le problème de l'origine de l'hypercycle, du code génétique, de l'appareil de traduction. Nous ne pouvons pas croire que ces événements se sont produits accidentellement, avec une probabilité très petite. S'il en était ainsi, l'origine même de la vie aurait une probabilité infiniment petite. Nous cherchons donc un modèle qui interpréterait l'évolution prébiologique et biologique et qui expliquerait le pourquoi de leur apparition.

§ 17.5. Autres modèles de l'évolution prébiologique

Penchons-nous avant tout sur les aspects thermodynamiques de l'évolution. Le modèle d'Eigen, qui explique la sélection des proto-ARNt ayant la meilleure valeur sélective, décrit le mécanisme de la diminution fluctuationnelle de l'entropie dans un système dissipatif. La mutation qui correspond à une augmentation de la valeur sélective, fait croître l'ordre (schéma de la figure 17.4).

Prigogine et col. (1972) ont effectué une étude phénoménologique de l'évolution en termes de la théorie de stabilité.

Soient n corps en interaction X_i $(i = 1, 2, \ldots, n)$, dont les concentrations x sont suffisamment élevées. Dans le cas d'un système ouvert on a

$$\dot{x}_i = \mathscr{F}_i^e(x_1, \ldots, x_n) + \mathscr{F}_i(x_1, \ldots, x_n). \qquad (17.18)$$

Le premier terme décrit le flux de matière venant du milieu extérieur, le second exprime les réactions à l'intérieur du système. On pose $\mathscr{F}_i^e$ constant et le système homogène. Supposons que les équations (17.18) ont au moins une solution asymptotiquement stable : cela veut dire que toutes les n racines de l'équation caractéristique du système ont leurs parties réelles négatives.

Admettons maintenant qu'il y a apparition fortuite de mutants des corps X_i : de leurs copies erronées Y_j $(j = 1, 2, \ldots, s)$ avec les concentrations y_j. L'ordre des équations (17.18) augmente de s. Lorsque $s = 1$ (un seul mutant), l'équation caractéristique du système agrandi contient un terme additif d'ordre ε. Quand ε est petit, l'équation caractéristique possède $n + 1$ racines, dont n racines sont proches des racines du système (17.18). La stabilité de l'état sta-

tionnaire du système agrandi ne se ressent que de l'effet de la nouvelle racine λ_{n+1} qui peut dépendre de ε soit comme

$$\lambda_{n+1} \sim \varepsilon^{-1}, \tag{17.19}$$

si le terme correctif sert de facteur dans le terme contenant $(n+1)$-ième puissance de λ, soit comme

$$\lambda_{n+1} \sim \varepsilon, \tag{17.20}$$

si l'apparition de Y_j ajoute un terme permanent dans l'équation caractéristique.

Comme résultat, dans les deux cas on peut y voir apparaître des racines à partie réelle positive. Une faible perturbation du système (17.18) peut provoquer une variation considérable de sa stabilité. Dans le cas de (17.19) cette variation est rapide et dans le cas de (17.20) elle est lente. Pour (17.19), l'évolution de Y est décrite par l'équation

$$\varepsilon\dot{y} = G(\{x\},\ y,\ \varepsilon), \tag{17.21}$$

où $\{x\}$ est la totalité des variables x_i. Les équations (17.18) s'écrivent alors:

$$\dot{x}_i = \mathscr{F}_i^e(\{x\}) + \mathscr{F}_i(\{x\},\ y,\ \varepsilon). \tag{17.22}$$

Dans le cas de (17.20) on aura, à la place des équations (17.21) et (17.22),

$$\dot{y} = G_1(\{x\}) + \varepsilon G_2(\{x\},\ y,\ \varepsilon), \tag{17.23}$$

$$\dot{x}_i = \mathscr{F}_i^e(\{x\}) + \mathscr{F}_{1i}(\{x\}) + \varepsilon\mathscr{F}_{2i}(\{x\},\ y,\ \varepsilon). \tag{17.24}$$

Analysons le cas (17.19). On introduit une nouvelle variable $\tau = t/\varepsilon \gg t$ et on récrit l'équation (17.21) sous la forme

$$\frac{dy}{d\tau} = G(\{x\},\ y,\ \varepsilon). \tag{17.25}$$

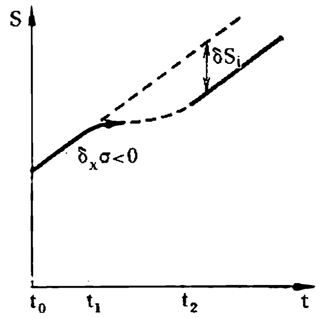


Fig. 17.4. Entropie S en fonction du temps pour le processus de sélection à flux totaux constants d'unités monomères. L'intervalle t_0t_1 correspond à l'état stationnaire (σ = const); l'intervalle t_1t_2 est le domaine d'instabilité; lorsque $t > t_2$, un nouvel état stationnaire surgit

Les équations (17.21) et (17.22) décrivent l'évolution du système dans deux échelles temporelles différentes. Les équations (17.21) et (17.25) expriment une production rapide du nouveau corps Y, les valeurs de $\{x\}$ étant pratiquement constantes; les équations (17.22) décrivent la variation lente de $\{x\}$ après que y a atteint sa valeur stable correspondant à $G(\{x\},\ y,\ \varepsilon) = 0$. Ainsi, la sélection doit se produire vite. Thermodynamiquement, la situation est équivalente à celle représentée sur la figure 17.4: la production fluctuationnelle de l'entropie est négative.

Dans le cas de (17.20) les équations (17.23) et (17.24) définissent (pour l'état instable) l'évolution lente du corps Y vers un nouveau régime. La comparaison avec l'équation (17.6) fait voir que le facteur ε peut être interprété en tant que la vitesse moyenne des mutations, l'instabilité étant directement déterminée par les erreurs de la reproduction. Dans le cas de (17.19) le rôle des mutations consistait à introduire des liaisons entre les anciennes et les nouvelles variables. L'évolution par instabilité était due à l'apparition de nouveaux éléments (d'autres enzymes, par exemple).

Posons, dans l'équation (17.23), $G_1 = 0$, i.e. admettons que le nouveau corps n'est engendré que par les mutations. Le système de départ peut devenir instable, si G_2 est une fonction croissante à proximité de $(\{x_0\}, y, 0)$, x_0 étant les solutions du système initial.

Ces idées sont bien illustrées par les modèles cinétiques qui décrivent l'autocatalyse et la transition de phase: passage de la production des polymères d'un type donné à la production de polymères d'un autre type.

En 1972 Kuhn propose un modèle concret de l'évolution prébiologique qui tient directement compte de la périodicité nycthémérale de l'état du milieu. Cette périodicité consiste en variation périodique de la température et de l'humidification, le corps en question étant alternativement dissous et séché. D'abord il y a eu formation de chaînes polynucléotidiques relativement courtes — proto-ARNt — qui se pourvoyaient d'une structure tertiaire. La variation périodique des états du milieu agissait comme un facteur de sélection: seules les molécules qui résistaient à l'hydrolyse au cours de la phase humide étaient conservées. Les chaînes sélectionnées étaient celles qui étaient aptes à la réplication. C'est à ce moment qu'apparaissait la chiralité, dont le signe était dû à un événement initial fortuit (v. p. 44).

Ces processus se déroulaient à la limite de la mer et de la terre, les molécules étant synthétisées dans les pores (compartiments) des minéraux argileux, où pénétraient les monomères énergisés. La périodicité de l'état du milieu déterminait l'alternance de la multiplication des molécules et de leur sélection, celle des phases convergente et divergente. Puis les chaînes s'allongeaient (se compliquaient); à chaque étape les formes susceptibles de se multiplier présentaient une liaison fonctionnelle avec les conditions du milieu. C'était le début de l'extension graduelle de l'espace vitale.

La phase suivante, selon Kuhn, consistait en formation d'associats à partir des molécules de proto-ARNt. La sélection ne concernait que les molécules présentant une correspondance de structure les unes par rapport aux autres. La multiplication des associats devenait pratiquement dépourvue d'erreurs, malgré les erreurs fréquentes dans les molécules isolées. Le procédé qui se réalisait était pratiquement le même que celui utilisé dans l'assemblage industriel des machines à partir de pièces détachées. Les pièces sont contrôlées d'avance, isolément, avant de passer à l'assemblage.

Kuhn souligne la grande importance de l'auto-assemblage non seulement dans les systèmes vivants contemporains, mais aussi dans l'évolution prébiologique.

Ensuite, toujours selon Kuhn, l'évolution a consisté en accroissement de l'indépendance du système par rapport à son entourage bien spécifique, cette indépendance étant le fait de la complexité croissante du système. Les aspects informationnels de l'augmentation de la complexité seront traités plus loin (§ 17.9). Cela se produisait, là aussi, par alternance des phases divergentes et convergentes. La

phase convergente consistait à mieux ajuster l'organisation existante, la phase divergente à réarranger le système et à créer de l'information nouvelle. Après cette réorganisation l'espace vital s'étendait. Les associats grandissaient, pénétraient dans des régions à pores plus gros. Ensuite ils servaient de catalyseurs (matrices) dans la synthèse d'une autre variété de macromolécules (protéines) qui formaient des compartiments en bouchant les pores dans les minéraux et en empêchant la séparation par diffusion des molécules matricielles. Une rétroaction s'établissait entre les polynucléotides responsables de la synthèse des polypeptides et ces polypeptides. Les membranes faisaient leur apparition en rendant le système indépendant. Le code génétique surgissait en tant qu'un produit secondaire du développement évolutif. Enfin, naissaient les premiers enzymes primitifs.

Au cours des stades suivants l'appareil génétique s'est vu transformer : le mécanisme de réplication se détachait de celui de synthèse d'enzymes, ce qui faisait naître une troisième variété de macromolécules : les polydésoxynucléoprotéides (ADN).

Ces systèmes qui ont atteint un certain niveau de complexité, se butent à la limite génétique de la quantité d'information. Cette quantité limite est de l'ordre de 10^7 bits. L'erreur optimale lors de la réplication d'un acide nucléique est de 10^{-6}. Cette limite ne peut être franchie dans le cadre d'un seul système. Pour contourner cette difficulté, la nature a dû créer les sexes et la recombinaison génétique. L'édification de l'appareil génital exigeait des éléments structuraux extrêmement raffinés : il s'agissait d'une sorte d'évolution explosive des organites cellulaires. C'est en cela que consista le passage des procaryotes aux eucaryotes. C'était une transition par saut (comme une transition de phase !), car il n'existe pas de systèmes intermédiaires.

La théorie de Kuhn propose des estimations simples du temps nécessaire pour les phases successives de l'évolution prébiologique et biologique (v. § 17.6). Comme nous l'avons vu, dans ce modèle l'hypercycle se forme plus tard que les membranes.

Tchernavskaïa et Tchernavski considèrent comme insatisfaisante l'hypothèse sur l'existence de fonctions enzymatiques (polymérasiques) spécifiques chez les polypeptides issus d'une synthèse accidentelle (cette hypothèse figure aussi bien dans la théorie d'Eigen que dans celle de Kuhn). Cette supposition introduit dans le modèle un événement, dont la probabilité est extrêmement petite. Ces auteurs proposent leur propre modèle de l'évolution prébiologique qui diffère des précédents. On y admet la possibilité de la synthèse d'une protéine sur une molécule de polynucléotide jouant le rôle de catalyseur hétérogène. Le procédé même de cette synthèse prédétermine la forme de la molécule protéique et, par là, sa fonction.

L'assemblage à la surface d'un polynucléotide en double hélice

forme la structure complémentaire de la protéine, une sorte de gaine enveloppant le polynucléotide. Cette gaine peut avoir une fonction réplicasique, si la complémentarité qui existe entre la gaine et l'ADN (ou l'ARN) n'est pas complète, d'où une conformation mécaniquement contrainte du complexe. La variation périodique des conditions extérieures peut jouer, dans ce cas, un rôle important. Les complexes nucléoprotéidiques ainsi formés sont déjà aptes à l'autoreproduction qui, d'ailleurs, n'arrive encore pas à fixer les caractères « positifs »: la double hélice fille peut synthétiser une enveloppe empêchant la réplication. Il est possible que le système se pourvoit d'adapteurs primaires du type ARNt. La complémentarité étant incomplète, le complexe possède des vides où peuvent pénétrer des molécules complémentaires, d'une part, des doubles hélices et, d'autre part, d'un ou plusieurs acides aminés. L'adapteur possède la souplesse conformationnelle requise. Un tel mécanisme peut servir de mécanisme primaire de traduction qui apparaît avant la formation du code génétique universel.

Le modèle est mathématisé (équations cinétiques appropriées (non linéaires) et portraits de phase).

Le code génétique peut provenir de deux mécanismes. C'est tout d'abord, conformément à la théorie d'Eigen, une probabilité plus élevée de survie pour les objets à enveloppe protéique, cette enveloppe assurant la plus grande vitesse de réplication. Ce type de sélection peut conduire à un ensemble d'objets ayant les mêmes gaines protéiques, mais des séquences différentes de nucléotides. Alors, à une même suite d'acides aminés correspondront plusieurs suites de nucléotides. Mais dans ce cas l'évolution peut s'arrêter par « dégénérescence inverse ». On ne peut exclure l'apparition d'adapteurs complémentaires des mêmes séquences de nucléotides, mais d'ensembles différents d'acides aminés. Cela provoquera des erreurs dans la synthèse des protéines. Selon Tchernavskaïa et Tchernavski, la dégénérescence inverse est surmontée par les interactions antagonistes. Quand des molécules à séquences différentes de nucléotides interagissent entre elles, leurs jeux d'adapteurs peuvent se mélanger. Alors, dans les deux objets qui se sont rencontrés, la synthèse des protéines sera perturbée et ils périront, ce qui n'arrivera pas, si les deux objets sont identiques. Les équations cinétiques (sans dimension) pour le cas élémentaire de deux objets x et y sont de la forme

$$\frac{dx}{d\tau} = x - xy, \quad \frac{dy}{d\tau} = y - xy. \qquad (17.26)$$

Le portrait de phase du système est montré sur la figure 17.5. Les isoclines (v. p. 508) des horizontales sont les droites $y = 0$, $x = 1$; les isoclines des verticales sont les droites $x = 0$, $y = 1$. Le système a deux états stationnaires instables: le nœud instable $x = 0$, $y = 0$

et le col $x = 1$, $y = 1$. C'est un système trigger: suivant les conditions initiales, les trajectoires tendent soit vers le point $x \to \infty$, $y \to 0$, soit vers le point $x \to 0$, $y \to \infty$. C'est ainsi que se fait le choix d'une de deux possibilités.

L'existence d'interactions antagonistes dans l'évolution prébiologique exige toutefois une argumentation plus rigoureuse.

On doit à Ebeling et Feistel (1979) un modèle qui réunit la théorie d'Eigen et les notions de compartiment (coacervats selon Oparin). Les compartiments surgirent à un des premiers stades de l'évolution chimique. Ils constituaient des *microréacteurs* chimiques. La force motrice de l'évolution consistait en compétition de ces microréacteurs, dans lesquels naissait le « *langage moléculaire* », dont le code génétique tire son origine. C'est dans les microréacteurs que s'édifièrent les cycles et les réseaux catalytiques. En prenant en considération l'hétérogénéité spatiale, Ebeling et Feistel surmontent les difficultés liées à l'origine de l'hypercycle. Les coacervats-microréacteurs jouent le rôle de « protocellules », capables de se diviser et contenant les précurseurs de l'évolution de structures moléculaires et supramoléculaires plus complexes.

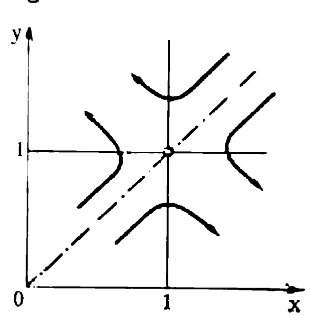


Fig. 17.5. Portrait de phase du système (17.26)

On ne peut pas dire que les modèles décrits reproduisent les processus réels de l'évolution prébiologique. Mais ils témoignent qu'il est possible, en principe, de construire des modèles physico-mathématiques de l'évolution prébiologique, pour passer ensuite à l'évolution biologique. Ils permettent de formuler la thèse qui a une importance capitale pour la biophysique théorique : la physique moderne suffit en principe pour comprendre les phénomènes biologiques, dont les phénomènes de développement sont à considérer comme les plus importants.

Les travaux relatifs à ce domaine n'en sont qu'à leur début ; les modèles que nous venons de décrire, bien qu'ils soient riches en enseignements, n'auraient qu'un intérêt passager. Mais on a déjà posé la première pierre de l'argumentation physique qui servira de base à la biologie théorique.

§ 17.6. Evolution biologique

Un chercheur initié à la théorie de l'évolution ne peut éviter de se poser une multitude de questions dès qu'il se trouve en face de la nature vivante. Si l'évolution n'est pas dirigée et qu'à chacun de ses stades il s'agit de passer en revue toutes les mutations surgissant

par hasard pour laisser survivre les mutants le mieux adaptés aux conditions du milieu, où a-t-elle trouvé le temps (n'ayant à sa disposition que $3{,}5 \cdot 10^9$ ans) pour créer des systèmes vivants aussi complexes ? Comment a-t-elle pu, en général, aboutir, par un choix tout fortuit, à des organes aussi complexes et perfectionnés que, par exemple, l'œil des vertébrés avec ses dispositifs de régulation ou l'œil à facettes des insectes ? Il semblerait que la sélection naturelle n'aurait pas dû se produire faute du temps et du matériel (mutants divers).

Telles sont les questions principales que se pose un physicien qui se penche sur l'évolution. Darwin qui édifia la théorie évolutionniste ne put y donner aucune réponse. Le fait que le chaos ait donné naissance à une biosphère hautement ordonnée restait inexpliqué sur la base de la pure statistique. Voilà pourquoi tant de théories finalistes d'évolution dirigée ont vu le jour, de la *nomogénèse* de Berg au « *principe Oméga* » de Teilhard de Chardin.

Au cours de ces dernières décennies la situation a changé, grâce aussi bien à une meilleure compréhension de l'évolution de l'Univers, qu'aux progrès de la génétique et de la biologie moléculaire. Sans disposer encore d'une théorie quantitative rigoureuse de l'évolution, nous pouvons répondre par l'affirmative aux questions formulées ci-dessus : oui, le temps et le matériel ont été suffisants.

Ainsi, Mayr écrit (1968) : « La conception actuelle du monde est déterminée par la connaissance de ce que l'Univers, les astres, la Terre et tous les êtres vivants se sont développés au cours d'une histoire longue ni prédéterminée ni programmée, histoire de changements progressifs permanents qui correspondaient à des processus plus ou moins dirigés, compatibles avec les lois physiques ». Comme nous l'avons déjà souligné (p. 12), l'évolution cosmique et l'évolution biologique se ressemblent dans ce sens.

La théorie de Darwin part de quatre grands principes.

1. Le monde n'est pas statique, mais se développe.
2. L'évolution est continue et graduelle.
3. La diversité des espèces, jusqu'à la biosphère entière, a un même ancêtre commun : la vie est née, sur la Terre, d'une façon tout à fait déterminée.
4. L'évolution a pour mécanisme la sélection naturelle, processus à deux stades qui consiste en apparition de différents variants et en survie de ceux qui s'avèrent les mieux adaptés au cours de la lutte pour l'existence.

Selon Darwin, chaque espèce donnée est représentée par son génotype principal avec un nombre réduit de variants rares qui s'en écartent. La découverte et les premières études des mutations ont corroboré, semblait-il, cette opinion, car les probabilités des mutations sont petites.

Or, nous savons aujourd'hui que chaque population renferme un réservoir immense de variations génétiques qui ne se manifestent

directement dans les différences entre des caractères macroscopiques. C'est un fait établi que chaque population assez grande possède des variations génétiques pour, pratiquement, tous les caractères de l'organisme. La technique d'électrophorèse sur gel a permis de mettre en évidence la variabilité très élevée des protéines, l'existence de jeux d'*isoenzymes* caractérisant les variants génétiques au niveau moléculaire. En témoigne également la diversité pratiquement illimitée des *lymphocytes* et des *anticorps* chez l'homme et les animaux supérieurs (v. § 17.8). La variabilité des protéines qu'on exprime par le taux des loci hétérozygotes par individu, atteint 17 % chez les plantes, 13,4 % chez les invertébrés, 6,6 % (limite inférieure) chez les vertébrés et l'homme.

Cette diversité génétique extrême est le fait de plusieurs facteurs, dont les plus importants sont la *recombinaison génétique* par suite de la reproduction sexuée, ainsi que la prédominance des *mutations neutres* qui n'affectent pas la vitalité. La plus grande partie des variants génétiques des populations ne provient pas des mutants nouveaux dans chaque génération, mais résulte de la « permutation » des mutations accumulées précédemment par voie de recombinaisons.

La diversité génétique est activement maintenue grâce à une série de facteurs et surtout aux avantages de l'hétérozygotie : les individus possédant beaucoup de loci hétérozygotes sont ordinairement plus forts et se reproduisent mieux que les homozygotiques.

Il est certain que les facteurs qui créent les mutations géniques agissent de façon désordonnée dans ce sens que ces mutations surgissent indépendamment de leur adaptation future au milieu environnant. Le fait que les variations initiales du matériel génétique ne peuvent être que mutationnelles, i.e. fortuites, démontre clairement le mal-fondé de la conception finaliste de l'évolution.

Ainsi, l'évolution disposait d'une quantité de matériel plus que suffisante, du moins à partir du moment où la reproduction sexuée a fait son apparition. Mais avait-elle un temps suffisant ?

L'apparition désordonnée, fortuite des mutations n'implique nullement une évolution non orientée. Cette orientation naît d'une façon toute naturelle, car la sélection par survie des mieux adaptés est un facteur d'orientation qui n'est pas aléatoire. Nous avons vu, comment ce facteur avait pu agir au cours de l'évolution prébiologique (§§ 17.2 à 17.5). La création d'information nouvelle est la mémorisation d'un choix accidentel. Si le choix est fortuit, la mémorisation ne l'est pas, étant soumise aux restrictions imposées par le milieu.

Notons en passant que la reproduction sexuée — les recombinaisons génétiques — suppose une création continue de nouvelle information, car la réunion des génotypes de deux individus donnés de sexes différents est un hasard non programmé.

Le progrès évolutif orienté s'établit donc de façon automatique,

car l'évolution favorise toute variation fournissant un avantage dans la compétition. Le bon fonctionnement de la sélection naturelle est le résultat de la haute individualisation des systèmes biologiques. Si l'évolution est exceptionnelle, c'est que ces systèmes sont individuels et tout problème posé par les conditions du milieu peut avoir une multitude de solutions. Le fait que les solutions possibles sont nombreuses veut dire que l'état du système en évolution est instable. Les mutations le font passer dans un des états relativement stables. L'instabilité est à l'origine du caractère orienté, irréversible de l'évolution.

Ce qu'il faut souligner en particulier, c'est la vitesse inégale de l'évolution des différentes structures de l'organisme. L'évolution des gènes régulateurs et des gènes de structure se déroule avec des vitesses différentes. Celle des systèmes enzymatiques présente la même particularité et ainsi de suite.

Comment l'évolution s'est-elle comportée dans le temps? La géologie et la paléontologie fournissent une ample information à ce sujet.

L'âge de la Terre s'élève à $4{,}5 \cdot 10^9$ ans. L'évolution chimique, ayant commencé il y a près de $4 \cdot 10^9$ ans, avait duré plus de $2{,}5 \cdot 10^9$ ans, jusqu'à la création de l'atmosphère oxygénée actuelle. Les évolutions chimique et biologique ont présenté un recouvrement: les premiers procaryotes datent d'il y a $3{,}5 \cdot 10^9$ ans. Il avait fallu tout le précambrien (ayant duré $2{,}5 \cdot 10^9$ années, jusqu'à il y a $1 \cdot 10^9$ ans) pour produire les premiers eucaryotes: algues unicellulaires. Les organismes pluricellulaires n'apparurent qu'il y a $0{,}5 \cdot 10^9$ ans, les végétaux terrestres et les vertébrés il y a $0{,}4 \cdot 10^9$ ans, les mammifères il y a près de $0{,}2 \cdot 10^9$ ans, les primates il y a $0{,}05 \cdot 10^9$ ans et *Homo erectus* il y a quelque $0{,}02 \cdot 10^9$ ans. Ainsi, la naissance des premières cellules avait demandé le plus grand temps, ensuite les choses allèrent plus vite.

Comment des systèmes aussi complexes se formèrent-ils et pourquoi les mutations ne les détruisirent-elles pas?

Selon une des thèses principales de la théorie évolutionniste contemporaine, une fois créée, l'information génétique ne disparaît plus. La formation de types distincts de végétaux et d'animaux est due à ce fait. Y est liée la *récapitulation*: ressemblance des embryons des différents groupes de vertébrés.

Les organes complexes doivent leur origine au caractère non pas finaliste, mais orienté de l'évolution. Leur formation découlait des lois du développement ontogénétique qui incarnait un génotype déterminé, réalisé en conformité avec les conditions du milieu. Un exemple caractéristique en est fourni par les phénomènes de *convergence*, tels que la formation d'un œil, analogue en principe à celui des vertébrés, chez les mollusques céphalopodes qui représentent une branche toute différente de l'évolution.

Il n'est pas facile de donner une interprétation physico-mathématique à l'évolution. Aucun darwiniste ne met en doute le fait que l'évolution est conforme aux lois physiques; mais dire que l'évolution se réduit aux lois physiques est dénué de sens. L'évolution biologique est le résultat de processus spécifiques se déroulant dans des systèmes spécifiques, dont l'explication ne peut être donnée qu'au niveau de complexité de ces processus et de ces systèmes. Néanmoins, il est possible en principe de simuler les processus évolutifs par les moyens physico-mathématiques. La génétique mathématique de la population est bien élaborée.

Quand on veut comprendre l'évolution, la plus grande difficulté est liée à l'idée erronée que les probabilités des événements évolutifs successifs — accumulation des mutations et variation des caractères — sont indépendantes l'une de l'autre. En réalité, on a ici affaire aux *chaînes complexes de Markov*: la probabilité d'un événement donné dépend de la réalisation de tels ou tels événements dans tout un ensemble des chaînons précédents. La chaîne simple de Markov est caractérisée par une *matrice stochastique*, dont les éléments p_{ij} expriment la probabilité de voir se produire l'événement i dans le n-ième chaînon, si au niveau du $(n-1)$-ième chaînon on a vu se réaliser l'événement j. Si la chaîne est complexe, la matrice stochastique change elle-même de façon continue. Les résultats de l'évolution influent sur les conditions aux limites: les conditions du milieu. La population en évolution est elle-même une partie de la biogéocénose, à l'intérieur de laquelle la population considérée évolue parallèlement à l'évolution des populations des autres espèces. Le caractère orienté de l'évolution s'exprime par ce que de nombreux éléments de la matrice en voie de variation sont nuls.

Dans le cadre de l'évolution divergente un rôle important revient au mécanisme fondé sur l'association avec les mutations postérieures. La symbiose, la diploïdisation, la réunion des portions d'ADN sont des exemples d'association. C'est uniquement grâce à l'association qu'un petit précurseur unique à courte chaîne d'ADN avait pu donner naissance aux espèces très diverses à chaînes d'ADN beaucoup plus longues.

Des organismes identiques — associats — peuvent engendrer par mutations des organismes différents à protéines différentes. L'interaction de ces organismes dissemblables ne sera pas tellement antagoniste (cf. p. 579), car le jeu d'adapteurs y est le même. L'association joue un rôle important à tous les échelons de la structure biologique, à toutes les étapes de l'évolution.

La description physico-mathématique de l'évolution doit avoir pour base les réalisations de la génétique de la population, la théorie générale des systèmes stochastiques et dynamiques non linéaires. Chaque nouvelle étape de l'évolution est le résultat de l'instabilité de l'état précédent du système. Comme on l'a dit plus haut (p. 531),

la naissance d'une espèce nouvelle est analogue à une transition de phase.

Nous reparlerons de l'évolution biologique au § 17.9.

§ 17.7. Ontogénèse

A la différence de la phylogénèse, le caractère orienté du développement individuel — ontogénèse — est évident. L'ontogénèse comporte trois processus essentiels: la *différenciation* des cellules, la *croissance* (augmentation du nombre de cellules et de la masse de l'embryon) et la *morphogénèse* (formation d'organes et de l'organisme entier). Tous ces processus se développent en conformité avec le programme génétique.

La différenciation cellulaire a pour base la différenciation moléculaire. Toutes les cellules somatiques d'un organisme pluricellulaire renferment un même ensemble de gènes, identique au génome de la zygote de départ. Cette situation a été démontrée par des expériences directes. Comme l'a établi Gurdon, le noyau d'une cellule épithéliale de l'intestin d'un têtard, transplanté dans un œuf de grenouille, dont le noyau a été détruit par l'irradiation ultraviolette, permet d'obtenir, à partir de cet œuf, un individu normal. Dans une cellule spécialisée la plupart des gènes sont réprimés: seule la synthèse de quelques protéines déterminées y est possible. Quand un génome spécialisé se trouve transplanté dans la zygote, les gènes, libérés de la répression, assurent un développement normal. L'étude chimique de la différenciation cellulaire a déjà fourni des résultats importants. Wessels et Rutter cultivaient un tissu embryonnaire: cellules du pancréas de rat. Cet organe produit les enzymes intervenant dans la digestion et les hormones régulant le métabolisme des glucides. Les cellules dites exocrines sécrètent les zymogènes, précurseurs des enzymes de digestion; les cellules endocrines produisent deux hormones: la glucagone et l'insuline. La production de toutes ces protéines a été étudiée à différentes étapes du développement embryonnaire; on a pu établir une corrélation entre la teneur en protéine et l'apparition de certaines structures intracellulaires. La production des protéines spécialisées augmente dans le temps d'une façon non monotone, en passant par trois phases de régulation (fig. 17.6). On sait que les cellules mésodermales des autres organes peuvent promouvoir la différenciation des cellules du pancréas. Cela s'expliquerait par l'action d'un facteur ayant, peut-être, une nature protéique.

La synthèse des protéines de sécrétion dans la culture des cellules épithéliales du pancréas est réprimée de façon spécifique par l'actinomycine D, antibiotique qui bloque la synthèse d'ARN. Le fait que l'actinomycine réprime successivement la synthèse de plusieurs protéines différentes est un indice de ce que les ARNm ne sont pas synthétisés tous en même temps (cf. p. 307).

Les phases du développement seraient déterminées par l'action coopérative d'un ensemble de gènes. Certains groupes de gènes sont simultanément activés, d'autres désactivés; de toute façon, il est certain que l'activation ne se produit pas « gène par gène » (il y en a plusieurs centaines). Il est possible que ce sont les variations de la structure du chromosome qui déterminent des transitions coopératives concertées ayant le caractère des transitions de phase (v. plus loin).

L'ontogénèse comporte deux types de processus. Ce sont, premièrement, les interactions de régulation intra et intercellulaires, con-

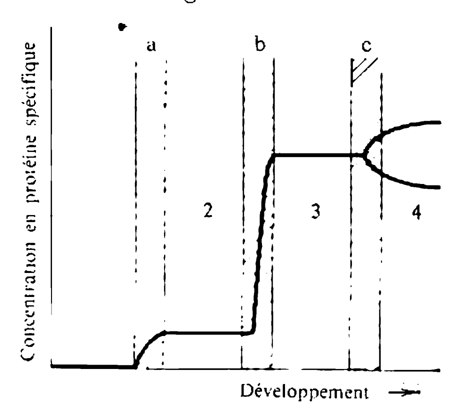


Fig. 17.6. Variation de la production des protéines spécialisées au cours de l'embryogénèse :
1 — état prédifférencié; 2 — état protodifférencié (stade I); 3 — état différencié (stade II); 4 — état définitif (stade III); *a*, *b*, *c* — transitions

ditionnées par les phénomènes de signalisation moléculaire, de reconnaissance moléculaire. Ces phénomènes déterminent, avant tout, la différenciation. Les processus du second type sont les déplacements actifs des cellules résultant de phénomènes mécanochimiques stimulés, à leur tour, par la signalisation moléculaire. Ces déplacements déterminent la *morphogénèse*.

La division cellulaire elle-même, dès l'apparition de deux premiers blastomères, est le résultat d'interactions intracellulaires, de la régulation de l'activité des gènes par certaines substances du cytoplasme et de la membrane cellulaire. La différenciation primaire (la *blastula*) a deux causes d'un caractère très général. La première est la distribution non uniforme de la matière dans le cytoplasme de la zygote initiale, la seconde est l'hétérogénéité du milieu à l'intérieur de la sphère cellulaire résultant de la segmentation. L'une comme l'autre témoigne de l'existence d'une *information de position*. En plus de ces facteurs, l'ontogénèse dépend de la régulation par contact et de la régulation humorale.

Les hormones commencent à agir aux stades avancés du développement. Un procédé complexe de développement — la métamorphose des insectes — est placé sous le contrôle de l'*ecdysone*, hormone de croissance. Une des principales substances intervenant dans l'ontogénèse est l'AMP cyclique (v. p. 42) qui assure la signalisation moléculaire intra et intercellulaire. On a constaté que l'AMPc pouvait amorcer la différenciation et la morphogénèse dans des cellules non différenciées *in vitro*.

La biologie des *myxomycètes* connaît un exemple éclatant du rôle de l'AMP cyclique dans le développement. Tant que la nourriture est abondante, ces organismes ont la forme d'unicellulaires amiboïdes. Si la nourriture manque, les myxamibes s'associent en pseudoplasmodie qui se développe comme un organisme multicellulaire comportant des dizaines de milliers de cellules, formant des sporophores et se reproduisant par spores. L'agrégation et la différenciation des myxomycètes sont le résultat de la sécrétion d'AMP cyclique et de la réception de ces signaux moléculaires.

L'ontogénèse est analogue à la phylogénèse — le développement évolutif — dans ce sens que l'embryon en voie de développement est une sorte de biocénose où coexistent plusieurs populations de cellules spécialisées. La forme de la « biocénose embryonnaire » est déterminée par ces mêmes populations. Cette « biocénose embryonnaire » n'est pas un système statique, c'est un système dynamique qui possède un comportement prédéterminé. Les cellules qui se divisent ne présentent aucune variabilité aléatoire. Le développement de la biocénose est déterminé par les effets extérieurs et les interactions intra et intercellulaires, mais il est programmé dans le génotype. Au § 17.9 nous parlerons des aspects informationnels de l'ontogénèse.

Les problèmes de la simulation théorique de l'ontogénèse ne sont pas près d'être résolus. Mais il y a déjà quelques travaux intéressants relatifs à ce domaine qui permettent d'espérer son développement ultérieur.

Les premières tentatives de la simulation de l'ontogénèse avaient, naturellement, un caractère purement biologique. Gourvitch a proposé une méthode formelle pour interpréter les interactions entre cellules dans la morphogénèse, ayant attribué à chaque cellule un « champ biologique » qui dépasserait les limites de la cellule et agirait sur ses voisins. Les champs de plusieurs cellules s'additionnent vectoriellement et provoquent le déplacement des cellules, nécessaire pour la morphogénèse (1944). On doit à Waddington la notion de *carte épigénétique*. Le développement de l'organisme est assimilé au déplacement sur un terrain accidenté dans l'espace des phases. L'itinéraire dépend de la nature du terrain et des effets extérieurs. Dans l'ontogénèse le développement est canalisé : il y a une limitation progressive des potentiels morphogénétiques des populations cellulaires. Waddington appelle *créode* la trajectoire canalisée du

développement qui attire les trajectoires les plus proches (1968).

La simulation physico-mathématique de l'ontogénèse a débuté par le travail de Turing déjà mentionné (p. 524). Au fond, ce travail résout un problème plus complexe qu'il ne faudrait: apparition de l'ordre spatio-temporel dans un système dissipatif complètement homogène, alors qu'en réalité la zygote de départ peut bien présenter une polarisation du matériel, la zygote n'est pas du tout homogène (amphibies). Cela découle du processus même de formation de l'ovule dans l'organisme non homogène. Un cycle se réalise: une zygote hétérogène est engendrée par un organisme hétérogène qui provient à son tour d'une zygote. On n'a pas encore effectué la simulation théorique de l'ontogénèse sur cette base.

Les modèles théoriques actuels, issus du travail de Turing, reposent sur les principes suivants.

1. La position de la cellule dans un système en voie de développement est caractérisée par son rayon vecteur $\boldsymbol{r}_i$.

2. Les gradients de concentrations des substances fonctionnelles sont assez petits, pour qu'on puisse négliger les dimensions propres des cellules. Par conséquent, on peut considérer $\boldsymbol{r}_i$ comme variant de façon continue.

3. L'état de la cellule est caractérisé par le jeu des concentrations des substances fonctionnelles x_j $(\boldsymbol{r}_i)$.

4. Les équations du bilan des matériaux définissent la cinétique chimique plus la diffusion (v. p. 524):

$$\frac{\partial x_j}{\partial t} = \mathscr{F}_j(x_1, x_2, \ldots, x_n) + D_j \frac{\partial^2 x_j}{\partial r_i^2}, \qquad (17.27)$$

où n, représentant, par exemple, le nombre de protéines différentes, est de l'ordre de 10^2.

5. Des structures macroscopiques différentes correspondent à des solutions stationnaires stables différentes.

Il est possible de considérer les problèmes géométriques, topologiques en faisant abstraction de la cinétique. Selon Wolpert (1969), c'est la voie du développement et non pas la structure de l'organisme à former qui est programmée dans les systèmes biologiques. On peut aisément formaliser la voie de la formation d'une structure géométrique qui est axiale (linéaire) dans le cas le plus simple. Le vrai problème consiste à pouvoir expliquer la régulation assurant le maintien de la structure et sa reconstitution après une destruction partielle. Ainsi, les hydroïdes qui possèdent une organisation axiale, rétablissent leur structure après qu'on en a éliminé une partie. Wolpert a proposé un modèle topologique de « drapeau tricolore » qui fournit une explication qualitative phénoménologique de la régulation du développement qui part de l'analyse d'une série linéaire d'éléments en interaction, dont chacun peut présenter plusieurs états possibles.

Martinez (1972) a imaginé un modèle constitué par une série linéaire de cellules. Chaque cellule de la série ne peut se diviser que si la concentration d'une certaine substance dans la cellule a atteint un niveau de seuil. La vitesse de variation de cette concentration dépend de la différence de concentration entre deux autres substances, « morphogènes », dont l'une est susceptible de diffusion entre les cellules. Le modèle de Martinez, qui est une version modifiée du modèle de Turing, conduit à une distribution non uniforme du matériel dans les cellules et à leur division spécifique.

Lavenda (1972) a étendu aux processus biosynthétiques la théorie des systèmes à états stationnaires multiples.

Nous partirons du modèle d'opéron (v. § 8.8). Le schéma correspondant est donné sur la figure 17.7. Le gène régulateur (GR) est responsable de la synthèse du répresseur Y qui réprime le fonctionnement du gène opérateur (GO) et, par là, celui du gène de structure (GS). Le GS produit l'ARNm R qui code

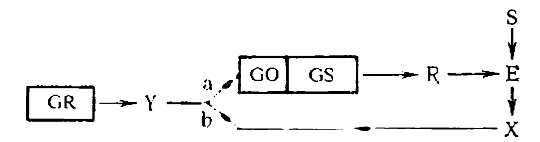


Fig. 17.7. Schéma des processus biosynthétiques (l'explication est donnée dans le texte)

pour la synthèse de l'enzyme E servant à transformer le substrat S en métabolite X, apte à former une liaison avec Y de façon réversible. Le répresseur Y est une protéine allostérique, dont les conformations diffèrent les unes des autres par leur activité de couplage vis-à-vis de GO. Les branches a et b de la figure 17.7 représentent les formes active et inactive de Y. Les transitions entre ces deux formes sont fonction de la concentration de X. La vitesse de synthèse de l'ARNm est limitée par la fixation de X par le répresseur Y. Si Y possède n sites actifs par rapport à X, le taux de saturation du répresseur en métabolite, i.e. le nombre moyen de molécules de X, liées par une molécule de Y, s'écrira

$$\overline{X}=\frac{\sum_{i=0}^{n} iL_iX^i}{\sum_{i=0}^{n} L_iX^i}-\frac{\partial \ln\left(\sum_{i=0}^{n} L_iX^i\right)}{\partial \ln X}, \qquad (17.28)$$

où $L_i=\prod_{j=0}^{i} K_j$, K_j étant la constante d'équilibre de la réaction

$$YX_{j-1}+X \rightleftarrows YX_j,$$

$L_0=K_0=1$ (cf. p. 231).

L'équation cinétique pour la synthèse de l'ARNm est de la forme

$$\dot{R}=k_1X-k_2R. \qquad (17.29)$$

En outre,

$$\dot{E} = k_3R - k_4E, \tag{17.30}$$

$$\dot{X} = k_5SE - k_6X. \tag{17.31}$$

Pour simplifier, on fait l'hypothèse que la décroissance de R, E et X est déterminée par la décomposition monomoléculaire. L'équation (17.29) dépend de la liaison non linéaire entre Y et X, i.e. des propriétés coopératives de Y. Le schéma le plus simple donnant un comportement coopératif dynamique, peut être établi pour un répresseur à trois sites de liaison ($n = 3$). Dans ce cas les valeurs stationnaires de X satisfont à l'équation

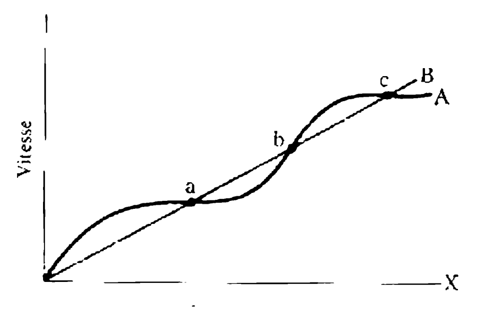


Fig. 17.8. Vitesse de synthèse (A) et de décomposition (B) de l'ARNm en fonction de X :
a, b, c sont les états stationnaires

Fig. 17.9. Vitesse effective de synthèse en fonction de X :
a et *c* — points de bifurcation, *b* et *d* — états stables

$$X_0^3 - (3\gamma - L_2/L_3)\, X_0^2 + (L_1 - 2L_2\gamma)\, L_3^{-1} X_0 - (\gamma L_1 - 1) L_3^{-1} = 0, \tag{17.32}$$

où $\gamma = \dfrac{k_1k_3k_5}{k_2k_6} S$.

La figure 17.8 montre la vitesse de synthèse et de décomposition de l'ARNm en fonction de la concentration en X. La condition nécessaire de l'existence de trois états stationnaires est $3K_3 > K_1 > 2K_2$. Le fait que les constantes K_1, K_2, K_3 et, partant, L_1, L_2, L_3 sont différentes traduit la coopérativité. En divisant (17.28) par X, on obtient la vitesse effective de synthèse et la vitesse effective de décomposition de l'ARNm (fig. 17.9). Les valeurs de X_1 et X_2 sont définies par la condition

$$X_{1,2} = (\gamma - L_2/3L_3) \mp [(\gamma - L_2/3L_3)^2 - (L_1 - 2L_2\gamma)/3L_3]^{1/2}. \tag{17.33}$$

Ce sont les points de bifurcation. Les branches *I* et *III* sont stables, la branche *II* est instable. Les points de bifurcation correspondent aux valeurs de seuil de la concentration qui, parallèlement aux gradients critiques de concentration, déterminent la régulation du système.

Les transitions entre les différents états stationnaires ressemblent aux transitions de phase (§ 15.5). La multistationnarité peut aussi découler de façon directe du comportement des enzymes qui possèdent plusieurs états conformationnels différents, leur activité catalytique variant par sauts.

Les propriétés de régulation, « trigger » d'un système à états stationnaires multiples sont mises en évidence dans le modèle de deux opérons liés en croix (Jacob, Monod, 1964, fig. 17.10). Le métabolite

X_1 produit par le premier opéron est fixé par le répresseur Y_2 du deuxième opéron et vice versa. En l'absence de coopérativité chez les répresseurs Y_1 et Y_2, les équations cinétiques ont la forme suivante (A, B, k_i étant des constantes):

$$\begin{aligned} \dot{R}_1 &= \frac{A}{B+E_2} - k_2 R_1, & \dot{R}_2 &= \frac{A}{B+E_1} - k_2 R_2, \\ \dot{E}_1 &= k_3 R_1 - k_4 E_1, & \dot{E}_2 &= k_3 R_2 - k_4 E_2. \end{aligned} \tag{17.34}$$

Dans les conditions stationnaires $\dot{R}_1 = \dot{R}_2 = \dot{E}_1 = \dot{E}_2 = 0$ et

$$E_1 = \frac{Ak_3}{k_2 k_4} \frac{1}{B+E_2}, \qquad E_2 = \frac{Ak_3}{k_2 k_4} \frac{1}{B+E_1}. \tag{17.35}$$

Ces deux courbes ne présentent qu'un seul point d'intersection: ce n'est pas un système trigger. Or, si on considère, à la place de (17.34),

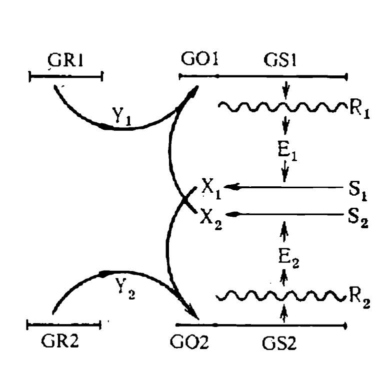


Fig. 17.10. Circuit trigger de Jacob et Monod

Fig. 17.11. Courbes stationnaires pour le système trigger

un système d'équations coopératif, non linéaire, qui a, dans le cas le plus simple, la forme

$$\begin{aligned} \dot{R}_1 &= \frac{A}{B+E_2^2} - k_2 R_1, & \dot{R}_2 &= \frac{A}{B+E_1^2} - k_2 R_2, \\ \dot{E}_1 &= k_3 R_1 - k_4 E_1, & \dot{E}_2 &= k_3 R_2 - k_4 E_2, \end{aligned} \tag{17.36}$$

on verra apparaître les propriétés trigger. Les courbes stationnaires sont exprimées par les formules

$$E_1 = \frac{Ak_3}{k_2 k_4} \frac{1}{B+E_2^2}, \qquad E_2 = \frac{Ak_3}{k_2 k_4} \frac{1}{B+E_1^2}. \tag{17.37}$$

Ces courbes sont représentées sur la figure 17.11. On y trouve trois points d'intersection a, b, c, dont a et c sont stables, alors que b est instable. Un tel système est apte à passer, par suite d'une faible

variation des paramètres, de l'état *c* (synthèse de la protéine E_1) dans l'état *a* (synthèse de la protéine E_2).

La simulation de l'ontogénèse se fait justement sur la base de la multistationnarité et des propriétés trigger des systèmes présentant des instabilités dynamiques. L'approche de ces systèmes en partant des analogies avec les transitions de phase est intéressante et prometteuse.

§ 17.8. Immunité

Des phénomènes spécifiques de différenciation cellulaire sont responsables de l'immunité : notamment, de la production d'anticorps dans l'organisme des vertébrés.

Nous avons décrit, au § 4.8, la structure et les fonctions des anticorps (AC), leur interaction avec les antigènes (AG). Ici nous considérerons l'apparition de l'immunité.

Le système immunitaire sert à lutter contre les microorganismes pathogènes. Pourtant, sa fonction ne s'y limite pas: ce système assure le contrôle de la stabilité génétique des cellules de l'organisme. Sa tâche principale consiste à éliminer les cellules mutées (cancéreuses, en particulier) de l'organisme animal. En réponse à l'apparition de l'antigène l'organisme produit des cellules réactives spécifiques (réponse immunitaire cellulaire) et des anticorps spécifiques (réponse immunitaire humorale). Les cellules réactives, ainsi que les anticorps, circulent dans l'organisme et interagissent spécifiquement avec les antigènes. Comme résultat, le matériel étranger peut être inactivé, détruit ou phagocyté par les cellules du système réticulo-endothélial. La conception actuelle de l'immunité tire son origine de la *théorie sélective ou clonale de Burnet* (1949). L'organisme produit des lymphocytes, dont chacun est sensible à un AG ou à plusieurs AG apparentés. Les lymphocytes produits sont sensibles pratiquement à tous les antigènes, y compris ceux que l'organisme n'a jamais rencontré dans les conditions biologiques. Les lymphocytes le doivent à la présence, sur leur membrane, de récepteurs spécifiques possédant une haute affinité pour un AG déterminé. L'antigène joue le rôle de facteur de sélection en stimulant le développement des clones de cellules immunologiquement actives à partir des lymphocytes qui ont les récepteurs spécifiques de l'antigène concerné.

Les anticorps sont produits par les plasmocytes parvenus à maturité (cellules *z*). La spécificité des AC coïncide avec celle des récepteurs se trouvant à la surface des cellules-précurseurs. Ce sont les cellules B, petits lymphocytes résultant de la différenciation de certaines cellules souches. Les récepteurs des cellules B sont des immunoglobulines (10^4 à 10^5 molécules par cellule). Les cellules B acquièrent l'aptitude à la division, à la prolifération après leur transformation en *blastes* (cellules *y*) sous l'action de l'AG. Cette

transformation se produit au bout d'une période de latence qui dure 24 à 48 heures. Les cellules y prolifèrent intensément. Une partie des cellules y engendrent les clones de plasmocytes z. Un clone donné de cellules z produit les anticorps. Les cellules z adultes ne se divisent pas, elles n'existent que quelques dizaines d'heures.

Les lymphocytes B, stimulés par l'antigène, peuvent, tout en formant le clone de cellules z, provoquer la formation de cellules de mémoire immunologique. La réponse immunitaire secondaire de l'organisme à l'effet d'un AG qui a déjà attaqué l'organisme dans le passé est d'habitude plus prompte et puissante que la réponse primaire. Ce phénomène a le nom de *mémoire immunologique*, il est lié à l'augmentation du nombre de cellules capables de répondre à une deuxième atteinte de l'antigène d'une façon analogue à l'action des lymphocytes B initiaux.

Cette seconde population de lymphocytes aptes à la reconnaissance spécifique d'un matériel génétiquement étranger est constituée par les cellules T. Ces dernières proviennent des mêmes cellules souches que les lymphocytes B, mais elles passent obligatoirement, au cours de leur développement, par le thymus. Une partie des cellules T répondent des réactions immunitaires cellulaires. En réponse au stimulus d'AG elles se différencient en cellules réactives spécifiques dites « killers ». Deux autres sous-populations de cellules T, « helpers » et « suppresseurs », jouent un rôle de régulation dans le développement de l'immunité humorale. Il existe aussi des anticorps indépendants du thymus, capables de provoquer une réponse normale sans l'intervention des cellules T.

Les événements décrits sont schématisés sur la figure 17.12.

Dans les phénomènes d'immunité on retrouve quelques problèmes fondamentaux de la biologie et de la biophysique. Il s'agit de la différenciation cellulaire, de la reconnaissance moléculaire et cellulaire. Les phénomènes d'immunité sont assez bien connus.

Nous analyserons le modèle théorique de l'immunité humorale, développé dans les travaux de Dibrov, Livchits et Volkenstein (1976-1978). Cette théorie prend directement en considération le retard de la réponse immunitaire (de la production de l'anticorps) par rapport à la stimulation. Le développement des cellules z à partir des lymphocytes B prend 3 ou 4 jours. Un temps encore plus long est nécessaire pour former les cellules de la mémoire. La figure 17.13 représente le schéma du développement d'un clone de cellules produisant un anticorps.

Comme le montre l'analyse mathématique, la durée du retard peut être décisive pour la nature de la réaction immunitaire.

La vitesse de production d'anticorps est proportionnelle à la quantité de plasmocytes présents qui est fonction du nombre des lymphocytes B stimulés précédemment par l'antigène à l'instant séparé du moment présent par le temps de retard t_r. De façon analogue, la production de cellules de mémoire est déterminée par le nombre d'actes de stimulation des lymphocytes B qui ont eu lieu à l'instant séparé du présent par le temps de retard t_m.

On décrit ce processus à l'aide d'un système d'équations différentielles à

argument retardé:

$$\dot{x} = J - \tau^{-1}x(t) - Px(t)\,g(t) + A_m x(t - t_m)\,g(t - t_m)\,\theta(t - t_m),$$
$$\dot{g} = Kg(t) - Qh(t)\,g(t), \tag{17.38}$$
$$\dot{h} = A_r x(t - t_r)\,g(t - t_r)\,\theta(t - t_r) - Rh(t)\,g(t) - Sh(t).$$

Ici x, g, h sont, respectivement, les quantités de lymphocytes B, d'antigène (mettons, des microorganismes qui se multiplient) et d'anticorps;

$$\theta(t) = \begin{cases} 0, & \text{lorsque } t < 0, \\ 1, & \text{lorsque } t \geqslant 0. \end{cases}$$

J est la vitesse de complètement de la population de lymphocytes B par différenciation des cellules souches, τ la durée de vie moyenne des lymphocytes B.

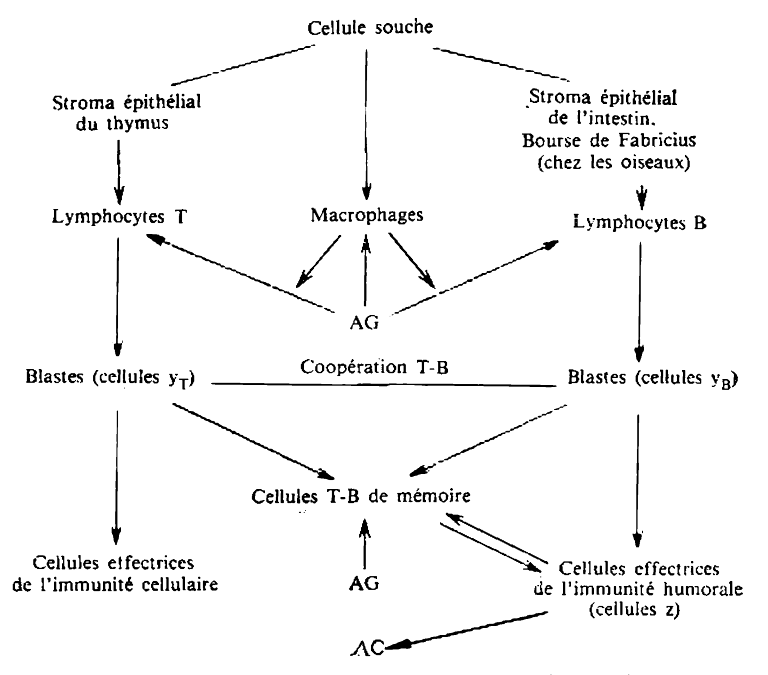


Fig. 17.12. Schéma des événements provoqués par l'introduction d'un antigène

Le deuxième et le troisième terme du second membre de l'équation pour $\dot{x}$ expriment, respectivement, la diminution du nombre de cellules B par suite de leur contact avec l'antigène et son augmentation par suite de la formation de cellules de mémoire que l'on considère comme identiques aux lymphocytes B initiaux. K est la constante de vitesse de la reproduction de l'antigène dans l'organisme, les termes avec Q et avec R définissent respectivement la diminution des quantités d'AG et d'AC par suite de leur interaction. Le terme avec A_r décrit la production d'AC, S caractérise la vitesse de décomposition de l'AC. Les paramètres P, A_m, A_r, t_m, t_r peuvent dépendre de la dynamique du nombre de cellules T à fonction régulatrice. On peut en faire abstraction pour les anti-

corps indépendants du thymus, ainsi que dans le cas, où le nombre stationnaire de cellules T est atteint rapidement. Nous poserons ces paramètres constants.

Si l'on veut examiner en détail les réactions immunitaires, il vaut mieux simplifier le système (17.38). Les AC possèdent une grande affinité pour les AG. Par conséquent, tant que la quantité d'AG n'est pas trop petite, les AC qui apparaissent réagissent vite sur les AG. En effet, on n'arrive à observer des quantités notables d'AC qu'après avoir éliminé les AG. Cela fournit une approximation du système (17.38) par les équations

$$\begin{aligned} \dot{x} &= J - \tau^{-1}x(t) - Px(t)\,g(t) + A_m(t-t_m)\,g(t-t_m)\,\theta(t-t_m), \\ \dot{g} &= Kg(t) - A_r\frac{fQ}{R}\,x(t-t_r)\,g(t-t_r)\,\theta(t-t_r). \end{aligned} \tag{17.39}$$

Ces équations ressemblent à celles de Volterra pour le système « prédateur-proie » (v. § 15.3) dans le cas où $A_m > P$. La différence consiste dans la prise en compte du retard dans les termes non linéaires.

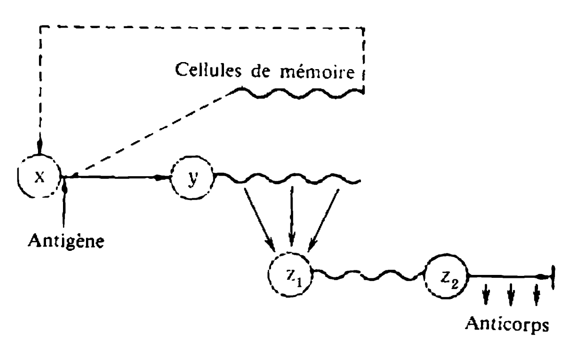


Fig. 17.13. Schéma du développement des cellules produisant les anticorps. Les lignes ondulées désignent la prolifération

En analysant les équations (17.39), on se rend compte que le caractère des points stationnaires sur les portraits de phase dépend notablement du retard. Le temps t_m ne doit être ni trop petit, ni trop grand, si l'on veut obtenir une répression efficace de l'antigène qui se multiplie rapidement. On pourrait s'attendre à voir t_m, en augmentant, faire croître, dans tous les cas, le temps nécessaire pour éliminer l'AG. Mais en réalité l'accroissement de l'instabilité parallèlement à l'augmentation du retard peut provoquer une réduction de la durée de la réaction grâce à la diminution du nombre de parcours du point stationnaire.

Maintenant, nous prendrons en considération la vitesse finale de la réaction AC-AG, en admettant que le nombre de lymphocytes B varie peu au cours de la réaction immunitaire, soit $x(t) \approx x(0)$. Les équations (17.38) prennent la forme

$$\begin{aligned} \dot{g} &= Kg(t) - Qh(t)\,g(t), \\ \dot{h} &= Ag(t-t_r)\,\theta(t-t_r) - Rg(t)\,h(t) - Sh(t), \end{aligned} \tag{17.40}$$

où $A = A_r x(0)$. Si $KR/AQ < 1$, le système possède deux points stationnaires $(0, 0)$ et $h_0 = K/Q$, $g_0 = (S/R)\,(KR/AQ)/(1 - KR/AQ)$. Le point $(0, 0)$ est instable, la nature du second point dépend des paramètres (particulièrement, du retard t_r). Sur la figure 17.14 on a représenté les trajectoires de phase du système (17.40) en variables sans dimension g/g_0, h/h_0 pour $KR/AQ = 0{,}5$; $S/R = 3$

et des valeurs différentes du retard $t_r K$. Le point stationnaire de la figure 17.14, *a* — foyer stable — correspond à une évolution de la maladie où, à partir d'un certain moment, le mal ne progresse plus, la quantité d'AG dans l'organisme demeurant pratiquement constante: l'organisme est devenu un porteur d'infection. La petite valeur de g_0 correspond à la guérison. Sur les figures 17.14,*b* à *d* on trouve des cycles limites, ce qui traduit un cours périodique de la maladie. L'amplitude des oscillations croît avec la durée du retard, alors que la quantité

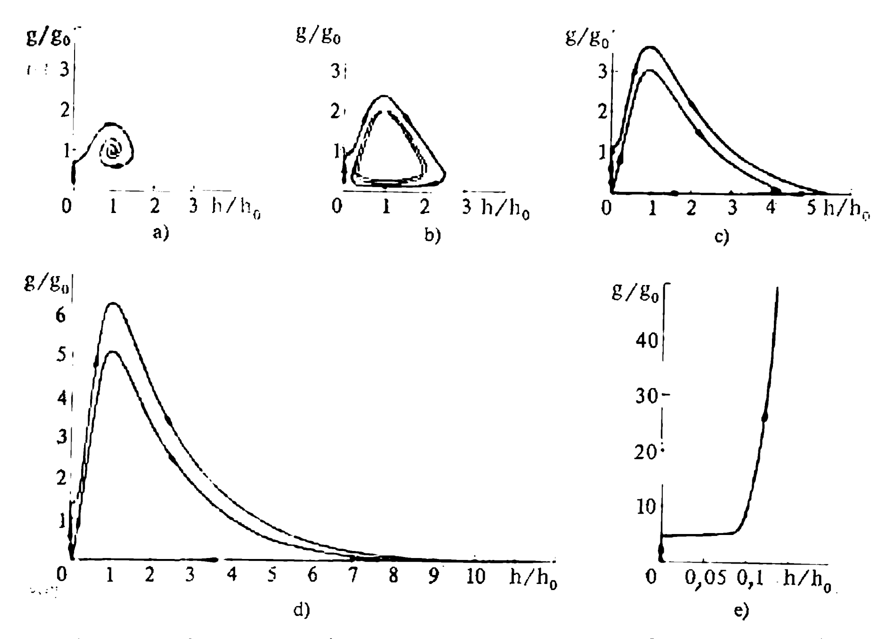


Fig. 17.14. Trajectoires de phase du système (17.40) pour les retards $t_r K$ égaux à 1 (*a*), 1,25 (*b*), 1,75 (*c*) et 3 (*e*)

minimale d'AG décroît. Parallèlement, on voit augmenter la part du temps, pendant lequel la quantité d'AG est proche de zéro. Le cas de la figure 17.14, *e* correspond à l'instabilité et à une prolifération illimitée de l'AG: l'organisme meurt.

Quand on tient compte de la vitesse finale de la réaction AG-AC, l'élimination complète des AG qui se multiplient n'est pas possible dans le cadre des équations déterministes (17.38) à (17.40). Mais, à faibles concentrations de l'AG, le processus est à considérer comme stochastique discret (§ 15.6): alors les AG peuvent être détruits complètement.

La théorie fournit une base à la tactique de traitement des maladies infectieuses. L'injection d'un sérum immunisant (AC spécifiques) sera la plus propice au moment, où la quantité des propres AC est maximale. Un antibiotique produira le meilleur effet, si l'on commence à l'utiliser au moment où la quantité des AG est maximale. Un emploi précoce des antibiotiques comme des anticorps affaiblit la réponse immunitaire propre de l'organisme, ce qui rend

plus probable une récidive. Dans le cas d'une infection faible à cours chronique une des méthodes de traitement possibles consiste à conférer volontairement à la maladie sa forme aiguë pour activer la réponse immunitaire de l'organisme et rendre plus probable l'élimination complète des AG.

Les problèmes de l'origine de l'immunité sont des problèmes de développement. On peut espérer que les principes de la modélisation de l'immunité, tels que la prise en compte du retard ou la considération des transitions de phase dans les systèmes multistationnaires hors d'équilibre aideront à simuler l'ontogénèse, la cancérogénèse, l'évolution biologique.

§ 17.9. Développement biologique et théorie de l'information

Comme nous l'avons mentionné plus haut, le développement biologique implique une diminution de l'entropie du système en développement et, par conséquent, une augmentation de l'information (pp. 570, 582). La quantité d'information augmente soit par séparation de l'information du bruit qui la dissimule, soit par création d'information nouvelle par mémorisation d'un choix accidentel (Quastler). Pour qu'un tel choix soit possible, il faut que le système soit *multistationnaire.*

L'espace des phases d'un système comporte des régions stables et instables. Ces dernières sont traversées par des séparatrices (v. p. 512). Aux régions stables correspond l'information, aux instables l'entropie. La transformation d'une partie de l'entropie en information dans un processus thermodynamique (disons, au cours de la cristallisation d'un liquide) veut dire que le système a occupé une région particulière de l'espace des phases, la seule qui est stable dans les conditions données. Dans ce cas aucune nouvelle information n'apparaît: la formation du cristal est programmée de façon univoque par la structure de ses molécules.

Dans un processus thermodynamique l'information augmente, mais elle n'est pas nouvelle, mais connue *a priori*, seulement dissimulée par le « bruit entropique ». Un système qui crée l'information, système multistationnaire, qui choisit un état sur plusieurs, n'est pas thermodynamique, mais dissipatif. La création de nouvelle information au cours de l'évolution est liée, en particulier, à la « mémorisation » des mutations neutres et des recombinaisons génétiques choisies au hasard, à l'apparition d'associats (p. 578). L'information nouvelle est créée à chaque croisement, à chaque apparition d'un nouvel individu. L'Univers entier, la Terre, la biosphère, l'homme dans son activité créatrice sont autant de systèmes créant de l'information. La formation des espèces qui, selon Darwin, se réalise par divergence, implique la création d'information nouvelle.

Schmalhausen a effectué un travail intéressant qui consistait à traduire la théorie de l'évolution en termes du langage de la théorie de l'information. La biocénose reçoit l'information sur l'état d'une population au moyen de rétroactions quelconques et comporte donc « un mécanisme spécifique de transformation de cette information en signaux de commande, ainsi que des moyens de transmission de ces derniers à la population ». Le schéma correspondant est donné sur la figure 17.15. L'information héréditaire n'est transmise de génération en génération qu'après sa transformation dans la biogéocénose,

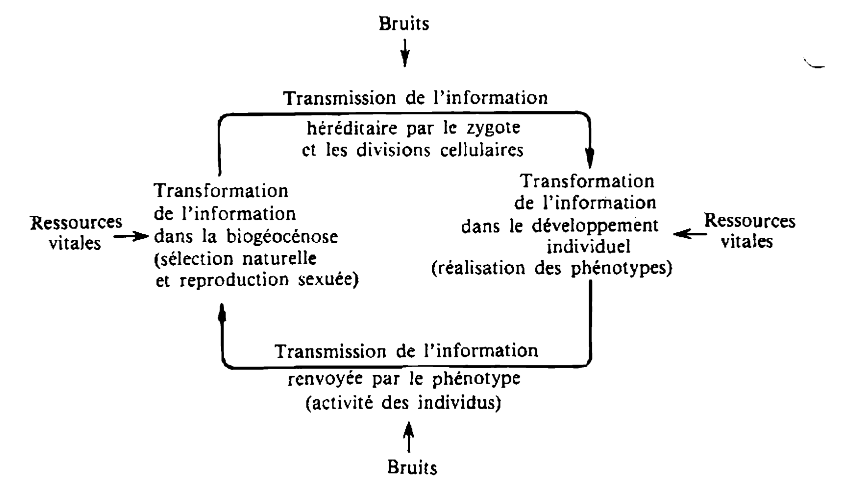


Fig. 17.15. Schéma général du mécanisme de régulation de l'évolution selon Schmalhausen

dont la population concernée fait partie. L'information sur les changements de la population est transmise par l'intermédiaire de la reproduction des individus sélectionnés, dont la descendance s'intègre dans cette même population.

Mais Schmalhausen soulignait que ce n'est pas la quantité d'information contenue dans chromosome, cellule, individu, population qui importe du point de vue de l'évolution, mais la *qualité* ou la *valeur* de l'information. « Dans tous les cas où il y a comparaison et sélection d'information, cela se fait sur la base de l'évaluation de qualité... L'appréciation qualitative de l'information est déterminante en biologie ».

Essayons donc de caractériser la valeur (qualité, contenu) de l'information.

La valeur de l'information que contient un message quelconque ne peut être caractérisée que par les résultats de la réception de ce message par un système donné. Il est impossible de donner une défi-

nition universelle de la qualité de l'information, telle que la définition de sa quantité (p. 313), car ce qui importe pour un système récepteur peut bien n'avoir aucune valeur pour un autre système. Ainsi, la valeur de l'information est en relation directe avec sa réception. La réception d'information est le processus non équilibré et irréversible de transition du système récepteur de l'état instable dans un des états stables possibles. La réception d'information implique donc l'apparition d'une information nouvelle dans le système récepteur. Ces systèmes diffèrent les uns des autres par leur niveau de réception. A chaque niveau donné seule l'information non redondante présente une valeur. L'*information redondante* est l'information répétée, dont la transmission réduit la probabilité de destruction de l'information par le bruit. Soit un certain texte écrit en russe. Si nous savons seulement que l'alphabet russe a 32 lettres, la quantité d'information par lettre s'écrira

$$I_1 = \log_2 32 = 5 \text{ bits}.$$

Au niveau suivant de réception on connaît les probabilités d'apparition des lettres : la quantité d'information par lettre sera calculée suivant la formule de Shannon (p. 314)

$$I_2 = -\sum_{i=1}^{32} p_i \log_2 p_i.$$

Les probabilités p_i sont normées à l'unité. On a $I_2 < I_1$; au deuxième niveau de réception le message présente une redondance

$$R_2 = 1 - I_2/I_1.$$

Aux niveaux suivants on tient compte des corrélations doubles, triples, etc., des différentes lettres. La redondance

$$R_j = 1 - I_j/I_1 \qquad (17.41)$$

croît avec le niveau de réception. Selon Shannon, pour la langue anglaise on a

I_1	I_2	I_3	I_4	...	I_6	...	I_9
4,76	4,03	3,32	3,10	...	≈2,1	...	≈1,9 bits

avec la redondance

R_1	R_2	R_3	R_4	...	R_6	...	R_9
0	0,15	0,30	0,35	...	≈0,56	...	≈0,60.

Au neuvième niveau 60 % des lettres contenues dans le message sont redondantes, les 40 % restantes suffisent pour recevoir le message. L'augmentation de la redondance entraîne l'augmentation de l'irremplaçabilité des lettres non redondantes.

Quand Schrödinger dit que l'organisme est un cristal apériodique, ce n'est pas la simple constatation de l'état condensé et de l'apériodicité. Un système apériodique contient beaucoup plus d'information non redondante précieuse que le système périodique équivalent.

Ainsi, la valeur d'une information dépend du déséquilibre et de l'instabilité du système récepteur, ainsi que des niveaux de la réception irréversible, l'information non redondante étant la seule à posséder une valeur. On peut définir la valeur quantitative de l'information comme l'accroissement de la probabilité d'atteindre un but donné grâce à la réception du message.

On peut définir la valeur de l'information de façon conventionnelle en tant que « taux de non-redondance » ou degré d'irremplaçabilité du message. Soit un message à N_1 « lettres » contenant la quantité d'information $N_1 I_1$. Au niveau suivant l'information reçue diminue jusqu'à $N_1 I_2$ $(I_2 < I_1)$. Remplaçons la diminution de l'information rapportée à une lettre par la diminution du nombre de lettres dans le message jusqu'à $N_2 < N_1$. Cela équivaut à négliger les lettres redondantes. L'information totale sera posée constante. Alors

$$\frac{N_2}{N_1} = \frac{I_2}{I_1} = 1 - R_2.$$

On considère que la valeur de l'information a augmenté en conséquence. Alors les rapports des valeurs correspondant aux niveaux successifs de réception s'écrivent

$$\frac{1}{1-R_1} : \frac{1}{1-R_2} : \ldots : \frac{1}{1-R_n} \quad \text{ou bien} \quad 1 : \frac{I_1}{I_2} : \frac{I_1}{I_3} : \ldots : \frac{I_1}{I_n}.$$

Pour l'anglais (p. 599), ces valeurs relatives sont égales à

$$1 : 1{,}18 : 1{,}43 : 1{,}54 : \ldots : 2{,}28 : \ldots : 2{,}50.$$

Considérons la réception de l'information génétique codée dans la séquence des nucléotides des ADN. Au niveau de réception de ce texte la quantité d'information que contient une chaîne d'ADN à n nucléotides s'écrit

$$I_1 = \log_2 4^n = 2n \text{ bits.}$$

Cette information présente une valeur pour le processus de traduction se déroulant dans le système hors d'équilibre de la cellule. La chaîne protéique synthétisée renferme la quantité d'information

$$I_2 = \log_2 20^{n/3} = 1{,}44n \text{ bits,}$$

avec la redondance due à la dégénérescence du code

$$R_2 = 1 - I_2/I_1 = 0{,}28.$$

Au niveau suivant nous tiendrons compte du remplacement possible de quelques acides aminés par d'autres acides aminés apparentés, sans que les propriétés de la protéine soient modifiées. Si le nombre d'acides aminés irremplaçables $N < 20$, il vient

$$I_3 = \log_2 N^{n/3} < I_2.$$

A ce niveau la redondance est égale à

$$R_3 = 1 - I_3/I_2 > R_2.$$

En passant au quatrième niveau, nous prendrons en considération la possibilité du remplacement de quelques protéines, par exemple, des protéases. En présence de deux variétés de chaînes d'ADN, à n_1 et n_2 chaînons, les protéines synthétisées auront respectivement $n_1/3$ et $n_2/3$ chaînons. Soient $n_1 = 0{,}75 n_2$ et $N = 16$ pour les deux protéines. Alors

$$I_1 = 2n_1 + 2n_2 = 4{,}67 n_1 \text{ bits},$$

$$I_2 = 1{,}44 n_1 + 1{,}44 n_2 = 3{,}36 n_1 \text{ bits},$$

$$I_3 = 1{,}33 n_1 \quad 1{,}33 n_2 = 3{,}10 n_1 \text{ bits}$$

et, si les protéines sont interchangeables,

$$I_4 = 1{,}33 n_1 \text{ bits}.$$

Les redondances R_4, R_3, R_2, R_1 valent respectivement 0,72, 0,34, 0,28, 0. Les valeurs relatives sont égales à 3,56, 1,50, 1,39, 1,00.

On définira la valeur de l'élément d'un message comme le degré de son irremplaçabilité.

On peut déterminer les valeurs des codons d'après le degré d'irremplaçabilité des résidus acides aminés codés. Batchinski (1976) a pu établir les valeurs du « *voisinage fonctionnel* » des résidus acides aminés (VFA) qui, étant tirées des résultats expérimentaux, caractérisent leur interchangeabilité. Le VFA est défini comme

$$\text{VFA} = \frac{2N_{ij}}{N_i + N_j},$$

où N_{ij} sont les nombres totaux des positions dans les protéines isofonctionnelles, occupées par l'acide aminé i chez les unes et par j chez les autres, N_i et N_j exprimant les fréquences respectives des résidus. Le tableau 17.2 rassemble les valeurs de N_i, N_{ij} (en bas à gauche) et celles du VFA (en haut à droite).

On trouve les valeurs relatives des codons en examinant les résultats de leurs mutations ponctuelles. Illustrons-le par un exemple. On a le codon AAA (Lys). Les mutations et les valeurs correspon-

Valeurs de $\dot{N}_i$, de la matrice $\dot{N}_{ij}$ et du VFA

		N_j	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	Ala	455		29	27	17	9	13	16	18	17	10	29	12	6	12	8	4	7	3	6	4	1
2	Ser	430	129		31	10	7	16	25	13	18	7	25	13	12	12	4	7	5	4	5	4	3
3	Thr	345	109	122		16	9	19	17	17	14	12	15	15	13	9	4	6	6	4	7	6	2
4	Val	338	69	40	55		23	10	7	9	5	35	13	12	7	9	8	10	5	6	11	2	0
5	Leu	332	37	25	29	78		6	6	6	2	24	5	10	5	4	16	7	5	1	15	4	1
6	Lys	308	50	58	62	32	19		17	17	14	5	11	18	25	9	1	5	7	0	5	0	4
7	Asn	287	60	32	54	21	20	50		15	27	3	20	15	11	6	4	7	14	1	3	2	1
8	Glu	284	66	48	52	27	20	51	41		31	5	14	25	8	7	1	5	4	2	3	0	1
9	Asp	262	61	63	44	14	7	39	75	86		3	18	12	6	8	0	5	6	1	2	0	0
10	Ile	236	35	24	36	99	67	13	8	14	7		5	8	7	4	10	11	4	1	10	4	1
11	Gly	232	99	84	43	37	15	31	52	35	44	11		12	8	11	6	5	4	2	2	5	2
12	Gln	230	41	43	44	35	27	49	39	63	29	19	27		15	10	2	4	12	2	4	3	0
13	Arg	227	21	40	36	19	14	66	27	20	15	16	18	35		5	5	8	7	1	6	3	2
14	Pro	188	39	38	25	23	11	23	15	17	17	8	23	21	10		3	3	3	1	1	1	3
15	Phe	159	26	13	10	20	40	3	10	3	1	19	12	3	9	5		28	9	1	5	13	2
16	Tyr	141	12	20	15	23	17	12	14	10	10	21	10	7	14	5	42		9	1	5	6	0
17	His	139	20	15	15	11	11	16	29	8	13	7	8	23	13	5	13	13		2	2	6	0
18	Cys	104	9	12	9	14	3	1	2	4	1	2	6	3	5	1	1	1	2		2	0	0
19	Met	99	17	13	16	25	32	11	5	6	4	16	3	7	9	1	7	6	2	2		4	0
20	Trp	48	9	9	4	3	8	0	3	0	0	5	3	4	4	1	13	6	6	0	3		0
21	Terminateur	33	2	7	3	0	1	6	1	3	2	1	2	0	3	3	2	0	0	0	0	0	

dantes du VFA sont les suivantes:

CAA Lys-Gly 18 ACA Lys-Thr 19 AAC Lys-Asn 17
GAA Lys-Glu 17 AGA Lys-Arg 25 AAG Lys-Lys 100
UAA Lys-Term 4 AUA Lys-Ile 5 AAU Lys-Asn 17

Nous attribuons arbitrairement la valeur du VFA = 100 à la substitution par le résidu identique (mutation silencieuse). Après avoir fait la somme de toutes ces grandeurs, on la divise par 300, obtenant une valeur conventionnelle de q qui est d'autant plus élevée que l'interchangeabilité des résidus est plus grande. Pour AAA, $q = 0{,}74$. La valeur conventionnelle caractérisant le degré d'irremplaçabilité d'un résidu est d'autant plus élevée que q est plus petit. Si on écrit cette valeur

$$v = (q + 0{,}5)^{-1},$$

dans l'exemple considéré $v = 0{,}81$. Les valeurs de v obtenues par ce procédé sont données dans le tableau 17.3. Ce sont des caractéristiques moyennes conventionnelles qui n'expriment que l'ordre de succession des valeurs des codons.

Tableau 17.3

Valeurs des codons *xyz*

x \ y	A	C	G	U	z
A	Lys 0,81	Thr 0,55	Arg 0,70	Ile 0,64	A
	Asn 0,79	0,55	Ser 0,80	Ile 0,65	C
	Lys 0,81	0,57	Arg 0,70	Met 1,25	G
	Asn 0,79	0,55	Ser 0,80	Ile 0,65	U
C	Gln 0,86	Pro 0,60	Arg 0,51	Leu 0,49	A
	His 0,94	0,61	0,61	0,57	C
	Gln 0,86	0,60	0,51	0,50	G
	His 0,94	0,61	0,61	0,57	U
G	Glu 0,76	Ala 0,52	Gly 0,57	Val 0,53	A
	Asp 0,77	0,52	0,55	0,54	C
	Glu 0,76	0,52	0,57	0,55	G
	Asp 0,77	0,52	0,55	0,54	U
U	Term	Ser 0,56	Term	Leu 0,68	A
	Tyr 0,98	0,56	Cys 1,12	Phe 0,86	C
	Term	0,54	Trp 1,82	Leu 0,69	G
	Tyr 0,98	0,56	Cys 1,12	Phe 0,86	U

On voit que les valeurs de codons codégénérés peuvent présenter des différences notables, les résultats de leurs mutations étant différents. Cela montre que les mutations silencieuses ne sont pas indifférentes à l'évolution. En prenant la moyenne de *v* sur tous les codons codégénérés, on trouve les valeurs conventionnelles des résidus acides aminés dans les protéines, valeurs qui caractérisent le degré d'irremplaçabilité de ces résidus (tableau 17.4).

Tableau 17.4

Valeurs des résidus acides aminés dans les protéines

			v		*v*
1. Trp	1,82	8. Lys	0,81	15. Pro	0,60
2. Met	1,25	9. Asn	0,79	16. Leu	0,58
3. Cys	1,12	10. Asp	0,77	17. Gly	0,56
4. Tyr	0,98	11. Glu	0,76	18. Thr	0,55
5. His	0,94	12. Ile	0,65	19. Val	0,54
6. Gln	0,86	13. Ser	0,64	20. Ala	0,52
7. Phe	0,86	14. Arg	0,61		

C'est le résidu Trp qui a la valeur la plus élevée et qui est donc le plus irremplaçable. Comme nous l'avons vu, cela est aussi vrai pour les mutations terminales (p. 304).

Le développement biologique — l'ontogénèse comme la phylogénèse — va dans le sens de la complexité croissante du système biologique. Plus le système est complexe, plus il comporte d'éléments divers et de liaisons entre ces éléments. On voit s'accentuer le caractère irremplaçable des éléments du système et, comme conséquence, augmenter la valeur de l'information.

Une série de faits témoignent de l'augmentation de la valeur de l'information au cours du développement biologique. La récapitulation implique l'accroissement de l'irremplaçabilité de l'information dans l'embryogénèse. Cela se manifeste très nettement aux premiers stades de l'ontogénèse. Une région déterminée de la blastula ou de la gastrula toute récente du triton est responsable de la formation de l'œil. Cette région est dite *œil présumé*. Si on le transplante dans un embryon, dont le stade de développement est plus avancé, l'avenir de l'œil présumé dépendra de l'endroit où l'on l'a implanté : il formera le cerveau ou l'œil étant placé sur la tête de l'hôte ; si on l'a fixé dans un autre endroit de l'embryon, il formera des organes et des tissus caractéristiques de ces régions lors du développement normal. Au stade de neurula l'œil présumé devient *l'œil déterminé* : la région correspondante formera l'œil, quel que soit le locus embryonnaire dans lequel on l'aura transplantée. Au cours du développement l'*uni-*

potence succède à la *totipotence* : le caractère irremplaçable s'accentue. Des processus analogues ont lieu au cours de la phylogénèse, lors de la formation des espèces.

L'irremplaçabilité des éléments d'un système peut s'avérer néfaste pour sa faculté d'adaptation : la défaillance d'un élément irremplaçable conduira à la mort de l'organisme, car aucun autre élément ne pourra remplir sa fonction. Mais en revanche, la complexité plus grande du système due à l'irremplaçabilité plus élevée de ses éléments rend l'organisme plus autonome et, par là, mieux adaptable aux conditions extérieures.

On peut croire que la valeur de l'information ou, en d'autres termes, l'irremplaçabilité des éléments du message, doit augmenter, au cours du développement biologique, dès le plus simple niveau moléculaire de la structure. Utilisons les valeurs de v du tableau 17.4 pour calculer les différences des valeurs totales des cytochromes c de quelques organismes (tableau 17.5).

Tableau 17.5

Différences des valeurs totales des cytochromes *c*

Homme	0,00	Baleine	—0,88	Manchot	0,00
Rhésus	—0,10	Kangourou	—0,88	Poule	—0,05
Ane	—0,34	Chien	—1,06	Canard	—0,30
Cheval	—0,43	Eléphan	—1,22	Emou	—0,30
Porc	—0,58	Chauve-souris	—1,25	Pigeon	—0,58
Lapin	—0,66			Tortue	—0,80

Ces données fournissent quelques raisons pour croire que la valeur de la chaîne protéique augmente au cours de la phylogénèse. Certainement, il ne faut pas en conclure que la composition du cytochrome c peut refléter la perfection plus grande du cerveau humain comparé à celui d'un animal. Cette valeur plus élevée veut simplement dire que l'homme a subi une évolution plus longue.

Au cours du développement biologique il y a non seulement accroissement de la valeur de l'information présente dans l'organisme : l'aptitude du système biologique à sélectionner l'information de valeur augmente également. Cette faculté atteint son niveau le plus élevé chez les animaux supérieurs, dont les organes sensoriels sont destinés à cette sélection. La grenouille ne réagit qu'à un insecte qui se meut ; la chauve-souris, en utilisant l'écho-sondage ultrasonore, ne perçoit que les signaux réfléchis et non pas directs. La sélection de l'information précieuse est à la base de toute l'activité créatrice de l'homme.

Nous avons vu (p. 317) que l'énergie minimale dépensée pour obtenir un bit de toute information est égale à kT ln 2. C'est ce que

vaut un bit de toute information : de celle qui est nécessaire comme de celle qui n'est pas indispensable. La sélection de l'information convenable ne demande aucune dépense énergétique supplémentaire. Pour cela il suffit, par exemple, d'une structure appropriée des canaux dans la membrane de la cellule réceptrice qui ne laisserait passer que les molécules ou les ions d'une forme ou d'une taille déterminée. Les dépenses énergétiques liées à la création des canaux spécialisés ou des sites récepteurs de la membrane avaient été faites plus tôt, au cours des stades précédents de l'évolution biologique.

Tout système vivant est donc capable de sélectionner l'information, dont elle a besoin, sans avoir à le payer. Dit autrement, le système vivant, en se développant, s'approche de l'état où il ne « paie », à raison de kT ln 2 par bit, que l'information qui lui est vraiment utile, sans avoir à « payer » l'information non perçue qui n'a aucune valeur pour lui.

Les idées que nous venons d'exposer demandent à être développées et précisées. Il est probable que la valeur (l'irremplaçabilité) des résidus acides aminés varie suivant la région du globule protéique. Dans la région du site actif les résidus seraient plus irremplaçables qu'ailleurs. En dehors du site actif la remplaçabilité serait plus élevée et la valeur moins importante. Par conséquent, on observerait, dans cette région, une dérive désordonnée des substitutions, une évolution rapide à base de mutations neutres ou de mutations ayant peu d'effet sur l'adaptation (théorie neutraliste de Kimura, p. 121). Les conceptions informationnelles seront, sans aucun doute, utiles pour le développement ultérieur de la théorie de l'évolution. L'apparition d'une nouvelle information précieuse n'est possible qu'en présence d'un « pool » d'information de peu de valeur.

§ 17.10. Complexité et évolution

Après avoir analysé quelques aspectsdév informationnels du eloppement biologique, nous allons considérer, pour conclure, la notion de complexité, intimement liée à la théorie de l'information. On a l'habitude de dire que la complexité des systèmes biologiques augmente au cours de l'évolution. Quelle que soit la définition de la complexité, il est évident qu'un organisme pluricellulaire est plus complexe qu'un système unicellulaire, que l'homme est plus complexe qu'une algue bleue. Mais la science exige des définitions rigoureuses.

Usuellement, en parlant de complexité, on pense au nombre de composants formant le système. Une telle définition figure, par exemple, dans l'ouvrage classique de von Neumann consacré à la théorie des automates autoreproductibles. Von Neumann écrit à ce propos que la description d'un objet de haute complexité peut être plus complexe que ne l'est l'objet même. Quand on a affaire aux systèmes com-

plexes de la logique formelle, il s'avère plus difficile (d'un ordre de grandeur) de raconter ce qu'un objet donné peut faire que de confectionner cet objet. Les systèmes de complexité élevée ont, en principe, la faculté de créer quelque chose de plus complexe qu'eux-mêmes.

Une définition stricte de la complexité, qui permet d'exprimer cette notion de façon quantitative, a été donnée dans les travaux de Kolmogorov, Chaitin, Martin-Löf. Un objet complexe est susceptible de codage sous forme d'un message, tel qu'une séquence de zéros et d'unités. On définit la complexité comme le nombre minimal de ces signes binaires renfermant toute l'information qui suffit pour reproduire (décoder) cet objet. En d'autres termes, la complexité est la longueur (exprimée en bits) du programme le plus économique engendrant une suite de signes binaires qui définit l'objet.

Considérons quelques exemples. Voici deux messages

0101010101010101
0100100011011010

Lequel est le plus complexe ? Certainement, le deuxième. Le programme qui est à l'origine du premier message stipule « écris 01 huit fois de suite » ou $(01)^8$. Le second message n'a pas de programme aussi simple, le sien dit : « écris 0100100011011010 ». La longueur du programme est identique à celle du message même.

Un autre exemple. On communique le nombre 3,1416, etc. Le programme économique correspondant est tout simplement la lettre π, qui exprime le rapport de la longueur du cercle à son diamètre.

Fait remarquable : la complexité ainsi définie est équivalente au hasard : une suite aléatoire d'éléments (tels que les unités binaires) se caractérise par une complexité qui coïncide approximativement avec la longueur exprimée en bits de cette suite. Tout programme minimal ne peut être qu'aléatoire, dépourvu de régularité. Soit un message M constitué par une suite d'unités binaires que définit le programme minimal P. En supposant que P n'est pas aléatoire, on aurait, par définition, un programme P′ plus court engendrant P. On pourrait alors obtenir M à l'aide de l'algorithme suivant : « Déduis P de P′, puis déduis M de P ». Autrement dit, dans ce cas-là le programme P ne serait plus minimal.

Mais la notion de programme minimal se heurte à des difficultés de principe, quand on l'applique aux concepts de complexité et de hasard. Il est facile de démontrer qu'une suite donnée d'unités binaires n'est pas aléatoire : pour cela il suffit de trouver un programme qui engendre cette suite et qui est plus court qu'elle. Mais peut-on affirmer que ce programme est effectivement le plus court ? Et peut-on démontrer, d'autre part, qu'une suite donnée est aléatoire, complexe, c.-à-d. qu'il n'existe aucun programme plus court pour la reproduire ?

Il est impossible d'y répondre par l'affirmative en vertu du théorème d'incomplétude de Gödel. Les mathématiques modernes considèrent les systèmes formels. Gilbert a introduit, en qualité d'un tel système, un langage constitué par un alphabet fini de symboles et une grammaire servant à formuler des énoncés sensés, un nombre fini d'axiomes et un nombre fini de règles pour déduire des théorèmes des axiomes et d'autres théorèmes. En 1931 Gödel a démontré que tout système formel de ce genre ne peut inclure tous les théorèmes vrais et qu'il est donc incomplet. La démonstration de Gödel est liée au paradoxe du Crétois Epimenides : « Tous les Crétois sont menteurs ». Ou, sous une autre forme : « Cette affirmation est fausse » n'est une affirmation vraie que si elle est fausse. Gödel a substitué à la notion de véracité celle de démontrabilité : « Cette affirmation n'est pas démontrable ». De cette façon, soit la fausseté est démontrable, ce qui est interdit, soit l'affirmation vraie n'est pas démontrable : le système formel n'est donc pas complet. Il est impossible de démontrer, dans un système formel, qu'une suite donnée d'unités binaires a une complexité plus élevée que le nombre de bits dans le programme utilisé pour trouver cette suite. Par conséquent, la détermination du programme minimal est toujours plus ou moins conventionnelle et la notion de complexité a un caractère relatif.

A propos de ce qui précède notons que le but de la science consiste à trouver le programme minimal qui engendre (explique) la complexité étudiée d'un ensemble de faits. Tel est le sens du « rasoir Ockham » pour la science : « la quiddité ne doit pas être amplifiée sans nécessité ». Ainsi, la loi de l'attraction de Newton programme la chute d'une pomme aussi bien que le mouvement des planètes. Mais le théorème de Gödel ne permet pas de démontrer le caractère minimal (économie maximale) d'un programme par voie logique. Voilà pourquoi les seuls raisonnements logiques ne suffisent pas pour développer la science. La connaissance scientifique a besoin de l'intuition. Comme l'a dit Mandelstam, l'équation de Schrödinger n'a pas été déduite, mais devinée.

Revenons à la biologie. La complexité, dont nous avons adopté la définition, croît effectivement, en règle générale, au cours de l'évolution, dans la phylogénèse. Mais il existe également des situations contraires. Ainsi, le passage évolutif au parasitisme n'est pas une complication, mais une simplification.

Comme nous l'avons vu, les systèmes biologiques reçoivent, séparent des bruits, créent, reproduisent et gardent dans leur mémoire l'information : avant tout l'information génétique. Tous ces processus sont hors d'équilibre et irréversibles. L'information séparée, créée ou perçue n'est plus perdue, en règle générale, au cours du développement biologique postérieur : dans la phylogénèse et l'ontogénèse.

La théorie synthétique moderne de l'évolution réunit le darwinisme, où la sélection naturelle joue le rôle primordial, et la géné-

tique, y compris ses réalisations récentes fondées sur la biologie moléculaire. Timoféev-Ressovski indiquait que la biologie théorique ressentait le besoin d'un troisième principe en plus de deux existants (sélection naturelle et réplication moléculaire des gènes). Il s'agit, comme nous l'avons vu, de la réplication covariante, processus au cours duquel les changements survenus par mutations dans les ADN sont fixés et retenus.

Ce troisième principe recherché serait nécessaire pour donner une formulation nette aux facteurs qui déterminent le caractère orienté, l'irréversibilité et, par là, le rythme de l'évolution. Certains ont proposé, en qualité de ce principe, la complication évolutive : l'évolution serait orientée dans la direction de l'augmentation de la complexité et non pas de l'accommodation, de l'adaptation et de l'adaptabilité. On trouve dans la littérature biologique l'assertion selon laquelle ce principe serait indépendant de la sélection naturelle. Il ne semble pas que ce soit ainsi en réalité : la complication est due à la sélection naturelle des génotypes, i.e. aux adaptations aux niches écologiques toujours nouvelles. L'accroissement rapide de la complexité est assuré, dans l'évolution, par la reproduction sexuée qui conduit à la recombinaison des génomes, à la création d'une information nouvelle par mémorisation d'un choix accidentel. Le choix du partenaire de reproduction est principalement fortuit, si l'on fait abstraction de la sélection sexuelle ; l'apparition de la descendance signifie que ce choix a été retenu. La plus grande complexité d'un objet biologique surgit au niveau des individus. La complication évolutive (ainsi que la simplification, v. plus loin) due à l'adaptation aux différentes niches écologiques se traduit par l'individualisation. C'est dans ce sens que la formation des espèces consiste à diminuer la symétrie. Comme cela a été dit (§ 15.6), la formation d'une espèce nouvelle présente une analogie avec une transition de phase.

Les objets naturels les plus complexes sont les organismes vivants individuels et parmi ces derniers l'homme. Tout individu est unique, il n'existe aucun programme réduit pour le coder. Dans ce sens « nul n'est remplaçable ». Il est évident que cela est aussi vrai pour les créations de l'homme telles que les œuvres littéraires ou d'art. Impossible d'imaginer un programme minimal de « Guerre et Paix » : aucun algorithme ne peut simplifier une vraie œuvre d'art sans lui faire perdre son essence.

Mais tout organisme n'est pas qu'un individu. Léon Tolstoï est un grand écrivain, mais il est aussi *Homo sapiens*. Dit autrement, il représente le règne animal, l'embranchement « vertébrés », la classe « mammifères », l'ordre « primates », le groupe « anthropoïdes », la famille « hominidés », le genre *homo*, l'espèce *Homo sapiens*. Tous les représentants d'une subdivision sont équivalents, décrits par un même programme minimal. Dans ce cas « nul n'est irrempla-

1/2 39—01676

çable » et tout homme, indépendamment de la couleur de sa peau ou d'autres caractères héréditaires, est équivalent à tout autre représentant de l'espèce *Homo sapiens.*

Il est évident que le programme minimal s'allonge, la complexité croît dans la hiérarchie de la nature vivante, quand on passe du règne à l'espèce ou plus loin à l'individu. La découverte de cette hiérarchie qui existe réellement dans la nature, découverte, dont Linné fut le pionnier, est un des plus grands événements dans l'histoire de la science. Comme le fait voir la théorie moderne de l'évolution, l'apparition même de cette hiérarchie qui se termine par la formation des espèces est déterminée par la sélection naturelle et les lois de la génétique.

La science qui tend toujours à minimiser le programme a l'espèce pour point de départ. L'anthropologie classifie les races et les nationalités des hommes, la physiologie et la psychologie classent les manifestations des génotypes: la constitution du corps et les caractères (colérique, sanguin, mélancolique, flegmatique).

On voit bien que la notion même de complexité est relative: elle dépend du niveau de l'examen, du niveau de la réception. Un représentant donné de l'espèce *Homo sapiens* est équivalent à un scorpion au niveau du règne, à un amphioxus au niveau du clade, à une sarigue au niveau de la classe, à un maki au niveau de l'ordre, à un chimpanzé au niveau du groupe, à un australopithèque au niveau de la famille, à un homme de Neandertal au niveau du genre. La complexité croît en même temps que la similitude des animaux considérés.

Pour un biologiste le cerveau de bœuf est un système extrêmement complexe, dont la description nécessite des centaines et des milliers de bits, alors que pour un boucher toute l'information nécessaire se résume à quelque cinq bits: la cervelle n'est qu'une d'une trentaine environ de parties comestibles d'un bœuf de boucherie.

On voit donc que la notion de complexité est analogue à celle de valeur d'information considérée au paragraphe précédent. Nous avons défini la valeur de l'information comme l'irremplaçabilité, la non-redondance à chaque niveau donné de la réception Il est évident que la définition de la complexité que nous avons donnée ici ressemble à celle de la valeur: ce à quoi on ne peut substituer un programme plus court, est irremplaçable, non redondant. Mais ces deux notions présentent aussi des différences.

Premièrement, la notion de complexité a rapport à un objet, à une suite entière d'unités binaires. On peut, par contre, caractériser la valeur (irremplaçabilité, non-redondance) d'un élément isolé de cette suite. Nous avons défini plus haut les valeurs relatives des codons et des résidus acides aminés.

Deuxièmement, le concept de complexité ne caractérise que la structure de l'objet, alors que la valeur (l'irremplaçabilité) reflète

simultanément la fonctionnalité de l'objet et de ses éléments séparés.

Ainsi, le concept de valeur d'information que nous avons introduit précédemment est plus large que celui de complexité : au fond, il inclut cette dernière. En utilisant la notion de valeur, on peut surmonter la difficulté se rattachant au fait que l'évolution peut parfois présenter non pas une complication, mais une simplification. Ces faits sont contraires à l'idée d'accroissement de complexité au cours du développement biologique. On peut se demander, ce que devient dans ces cas-là la valeur de l'information.

Considérons en guise d'exemple la simplification évolutive du ver *Bonellia viridis*. La femelle de cette espèce est un être macroscopique, un organisme pluricellulaire complexe à fonctions variées. Le mâle est, par contre, microscopique, il vit dans les conditions génitaux de la femelle et sa seule fonction est la fécondation. Il est évident que le programme minimal et la complexité du mâle sont considérablement réduits par rapport à la femelle. Mais qu'est-ce que cela veut dire?

Il faut croire que le génome du mâle ne diffère pas trop de celui de la femelle. Mais, chez le mâle, une grande partie des gènes sont bloqués, ne fonctionnent pas. Le programme réduit caractérise non pas un raccourcissement du génome, mais la réduction de sa fonctionnalité grâce à ce blocage.

Deux causes peuvent être à l'origine d'une réduction du programme. Premièrement, on peut voir diminuer le volume de l'information disponible : le génome en action, non bloqué, peut se raccourcir. Deuxièmement, il est possible que le texte de ce message fonctionnel change pour devenir plus ordonné : une partie de l'information disponible devient redondante. Dans ce dernier cas le texte se simplifie en devenant moins aléatoire. Dans le premier cas la valeur de chaque élément du message, de chaque lettre, demeure élevée ; elle peut même croître. Dans le deuxième cas on voit diminuer aussi bien la complexité que la valeur. Tout porte à croire que c'est le premier cas qui se réalise lors de la simplification évolutive se traduisant par l'adaptation spécifique du mâle parasite du ver *Bonellia* : la complexité décroît, alors que la valeur spécifique de l'information génétique fonctionnelle ne diminue pas et peut même augmenter. Une haute valeur veut dire une bonne adaptation (et une bonne faculté d'adaptation), une irremplaçabilité élevée de la structure comme des fonctions.

Nous en venons à la conclusion que le troisième principe fondamental de la biologie théorique peut bien être non pas celui de l'accroissement de la complexité, mais le principe de l'accroissement de la valeur (de l'irremplaçabilité) de l'information dans le développement biologique aussi bien phylogénétique qu'ontogénétique. Ce principe n'est pas indépendant de la sélection naturelle ni de la ré-

plication covariante (de la mémoire génotypique). Mais c'est la formulation de ce principe qui souligne le caractère irréversible (orienté) de l'évolution biologique.

Tous ces raisonnements ont, cependant, une nature très générale. Pour concrétiser le principe d'accroissement de la valeur (ou de la complexité), il est nécessaire d'étudier la structure et la fonctionnalité des génomes. Cet effort n'en est qu'à ses débuts.

Il est nécessaire de mettre en évidence le fait que la conception usuelle des changements évolutifs lents par suite de la faible probabilité des mutations ponctuelles est franchement insuffisante. Si l'on part de cette conception, il est vraiment très difficile de comprendre, comment l'évolution a eu le temps d'aboutir à la multitude des espèces que nous connaissons, à la structure extrêmement complexe de leurs organes tels que l'œil du vertébré.

La génétique moléculaire contemporaine montre que le génome est un système bien peu constant (Khésine). Il y a des facteurs qui se déplacent sur le génome: plasmides, certains phages, transposons. On a détecté chez les animaux la multiplication des gènes qui assure un accroissement de la masse des protéines produites. Avant on n'avait observé cette multiplication que chez les plantes. Maintenant elle est connue également chez les procaryotes. Il est évident que la duplication des gènes constitue la voie principale pour la divergence initiale des protéines, car, si un gène se trouve modifié, sa copie pourra continuer à remplir l'ancienne fonction. Comme nous l'avons dit, il existe des microsymbiotes, éléments mobiles du génome, qui déterminent la supermutabilité. Il s'agit d'une sorte de processus infectieux qui provoquent des accès de mutagénèse. Ce sont les phénomènes de cancérogénèse, de transduction, d'intégration des plasmides. On peut dire dans ce sens que les virus et les phages sont des « gènes enragés ».

D'autre part, les variations des génomes servent de facteurs de régulation de l'activité des gènes. La génétique est liée de façon directe à la biologie du développement. Ce fait détermine certains phénomènes, tels que les recombinaisons génétiques dans les cellules somatiques nommées crossing-over mitotique. Les recombinaisons à l'intérieur des chromosomes seraient responsables de la production des anticorps (immunoglobulines, v. § 4.8). Les immunoglobulines n'obéissent pas à la règle « un gène — une chaîne polypeptidique ». Chaque chaîne d'immunoglobuline résulte d'un mélange des potentialités synthétiques de divers gènes. Ainsi, un nombre limité de gènes en fonctionnement engendre une diversité pratiquement illimitée des anticorps.

D'autres faits témoignant des variations des génomes et du rôle régulateur de ces variations ont été détectés lors d'une étude des types d'accouplement chez les levures, dont les cellules possèdent une « sexualité ». On a étudié le mécanisme de l'inversion de l'acti-

vité des gènes chez les procaryotes: ainsi, la bactérie *Salmonella* présente une commutation de phase: aptitude à synthétiser une de ses deux flagellines.

Des variations ayant une valeur de régulation sont observées chez les gènes responsables de la synthèse des ARN ribosomaux et des histones. Ainsi, on observe l'apparition de copies extrachromosomiques de l'ADN ribosomal. Il paraît que tous les gènes qui se répètent plusieurs fois (en tandem) sont aptes à multiplier leur nombre.

Il va de soi que les variations du génome dues aux recombinaisons sont à leur tour soumises à une régulation. Ainsi, les changements de la structure locale de la chromatine influent sur les recombinaisons nécessaires à la réorganisation du génome. Au cours de l'ontogénèse il y a non seulement blocage des gènes, mais aussi des réarrangements dans le génome, dans l'ADN qui activent ou inactivent certains gènes en faisant varier l'activité totale de groupes entiers de gènes.

Une des questions principales que se pose la théorie moderne de l'évolution est la suivante: est-ce que les mécanismes responsables de la microévolution expliquent la macroévolution? La microévolution consiste en changements à l'intérieur d'une population définis par le décalage des fréquences des gènes. Ces décalages résultent, à leur tour, de la sélection naturelle des petites variations: mutations ponctuelles. La macroévolution concerne les variations au-dessus du niveau de l'espèce, en incluant la spéciation et les taxons supérieurs.

Si jadis on croyait que l'évolution se déroulait lentement, par accumulation graduelle des petites variations, la biologie actuelle connaît une multitude de faits qui témoignent d'une macroévolution par à-coups que l'on ne peut ramener à la microévolution. Parfois l'absence de formes transitoires dans les annales paléontologiques est un signe non pas de l'insuffisance de ces annales, mais de l'inexistence de ces formes. Souvent les petites variations ne s'accumulent pas du tout.

Vrba a attiré l'attention sur le comportement évolutif différent des « généralistes » et des « spécialistes ». Les premières espèces qui occupent des niches écologiques plus larges tolèrent difficilement les espèces voisines. Les caractères spécifiques des « généralistes » varient lentement, ils sont relativement stables. Par contre, les espèces spécialisées occupent des niches plus étroites et tolèrent plus facilement les espèces voisines. Mais de petites variations du milieu peuvent aisément déloger une telle espèce de la niche qu'elle occupe. Voilà pourquoi les « spécialistes » varient et disparaissent plus vite: leur évolution est plus rapide.

La diversité des voies et des procédés de l'évolution est aujourd'hui évidente. Un rôle évolutif de premier plan revient aux contraintes fondamentales des possibilités morphologiques imposées par les propriétés des matériaux, dont les organismes sont formés, à tous les

niveaux de leur organisation. Tous les organismes ne sont pas possibles. Pourquoi les vertébrés terrestres ont-ils quatre pattes? Parce que leurs ancêtres — les poissons — ont quatre membres correspondants. Il ne peut y avoir de transition progressive des plumes au poil et ainsi de suite.

L'évolution consiste en hiérarchie des processus et des contraintes qui lient les génotypes possibles aux phénotypes actuels. Les instructions, codées dans les génomes, sont « filtrées » par le réseau des contraintes du développement en créant le jeu de phénotypes possibles. C'est à ce stade qu'intervient la sélection naturelle qui ne retient que les phénotypes qui s'adaptent (qui possèdent une valeur élevée).

Une étude détaillée récente des populations de quelques espèces de *Drosophila* a permis de constater que si, parfois, la formation des espèces se fait par accumulation des petits changements, dans d'autres cas elle résulte d'une « révolution génétique ». Dans le premier cas la macroévolution peut être ramenée à la microévolution, dans le second cas cela est impossible.

Au bout du compte, la diversité des voies de l'évolution provient de la dynamique des génomes, dont nous avons donné un aperçu sommaire et qui est loin de se réduire aux seules mutations ponctuelles.

Nous avons fait exprès de nous pencher ici sur quelques problèmes purement biologiques: nous avons voulu mettre en relief la complexité et le caractère multiforme de la théorie moderne de l'évolution. Tout son développement est indissoluble du darwinisme et de la génétique. Le principe de l'accroissement de l'irremplaçabilité (accompagné le plus souvent par une complexité croissante) que nous avons introduit est en total accord avec les particularités énoncées des processus évolutifs. La plus importante en est le caractère orienté de l'évolution.

Les recherches ultérieures qui devront associer la biologie évolutionniste à la biophysique, nécessiteront une étude détaillée des génomes. Nous ne savons pas encore, quelle partie du génome est responsable des caractères spécifiques et laquelle répond des caractères individuels. En partant des données moléculaires et génétiques, actuellement bien peu nombreuses, en s'appuyant sur les approches informationnelles déjà établies, la science de l'avenir construira un modèle physico-mathématique de l'évolution. Cette future théorie fournira les réponses quantitatives à certaines questions relatives aux matériaux et aux rythmes de l'évolution. Nous n'en sommes qu'au début de l'édification de la biologie théorique, dont les fondements ont été posés par Darwin et Mendel.

BIBLIOGRAPHIE

Chapitre 1

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 1).
2. Volkenshtein M. V., *Physics and Biology*, Academic Press, New York, 1982.
3. Schrödinger, *What is Life*? Macmillan, New York, 1945.
4. Villee G. and V. G. Dethier, *Biological Principles and Processes*, W. B. Saunders and Co., Philadelphia, 1971.

Chapitre 2

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 2).
2. Lehninger A. L., *Biochemistry*, Worth Publishers, Inc., New York, 1970.
3. Villee G. and V. G. Dethier, *Biological Principles and Processes*, W. B. Saunders and Co., Philadelphia, 1971.
4. Hochachka P. and G. Somero, *Strategies of Biochemical Adaptation*, W. B. Saunders Co., Philadelphia., Toronto, 1973.

Chapitre 3

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 3).
2. Volkenshtein M. V., *Configurational Statistics of Polymeric Chains*, Interscience, New York, 1963.
3. Birshtein T. M. and O. B. Ptitsyn, *Conformations of Macromolecules*, Interscience, New York, 1966.
4. Flory P. J., *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, Wiley-Interscience, New York, 2nd edition, 1975.
5. Tsvetkov V. N., V. Ye. Eskin and S. Ya. Frenkel, *Structure of Macromolecules in Solution*, Butterworth, London, 1970.
6. Bresler S. E., Eroussalimski B. L., *Physique et chimie des macromolécules*, Naouka, Moscou, 1963 (en russe).
7. Dachevski V. G., *Conformations des molécules organiques*, Khimia, Moscou, 1974 (en russe).
8. Tanford C., *Physical Chemistry of Macromolecules*, Wiley, New York, 1961.

Chapitre 4

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 4).
2. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. I, ch. 1).
3. Birshtein T. M. and O. B. Ptitsyn, *Conformations of Macromolecules*, Interscience, New York, 1966.

4. Flory P. J., *Statistical Mechanics of Chain Molecules*, Wiley-Interscience, New York, 2nd edition, 1975.
5. Pimentel G. C. and A. L. McClellan, *The Hydrogen Bond*, W. H. Freeman, 1960.
6. Timascheff S. N. and G. D. Fasman, eds., *Structure and Stability of Biological Macromolecules*, Dekker, N. Y., 1969.
7. Alexandrov V. Ya., *Cells, Molecules, and Temperature*, Srpinger, 1979.

Chapitre 5

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 5, 7).
2. Vainshtein B. K., *Diffraction of X-Rays by Chain Molecules*, Elsevier, Amsterdam, 1966.
3. Blandell T. L. and L. N. Johnson, *Protein Crystallography*, Academic Press, London, 1976.
4. Timasheff S. N. and G. D. Fasman, eds., *Structure and Stability of Biological Macromolecules*, Dekker, N.Y., 1969.
5. Kauzmann W., *Quantum Chemistry*. An Introduction, Academic Press, New York, 1957.
6. Ingram D. J. E., *Biological and Biochemical Applications of Electron Spin Resonance*, Adam Hilger, London, 1969.
7. Likhtenstein G. I., *Méthode des marqueurs de spin en biologie moléculaire*, Naouka, Moscou, 1974 (en russe).

Chapitre 6

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 6, 7).
2. Blumenfeld L. A., *Problems of Biological Physics*, Springer, Berlin, Heidelberg, 1981.
3. Cornish-Bowden A., *Principles of Enzyme Kinetics*, Butterworths, London, 1976.
4. Jencks W. P., *Catalysis in Chemistry and Enzymology*, McGraw-Hill Book Company, New York, 1969.

Chapitres 7 et 8

1. Volkenshtein M. V., *Molecular Biophysics*, Academic Press, New York, 1977 (ch. 8, 9).
2. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. I, ch. 1).
3. Watson J. D., *Molecular Biology of the Gene*, 3rd edition, W. A. Benjamin, California, 1975.
4. Bresler S. E., *Biologie moléculaire*, Naouka, Moscou, 1973 (en russe).
5. Spirine A. S., Gavrilova L. P., *Ribosome*, Naouka, Moscou, 1971 (en russe).
6. Kisselev L. L., Nikiforov V. G. et al., *Fondements moléculaires de la biosynthèse des protéines*, Naouka, Moscou, 1971 (en russe).

Chapitre 9

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. I, ch. 2).
2. Brillouin L., *Science and Information Theory*, Academic Press, New York, 1956.
3. Haken H., *Synergetics*, Springer-Verlag, B., Heidelberg, N. Y., 1978.
4. Prigogine I., *Introduction to Nonequilibrium Thermodynamics*, Wiley-Interscience, New York, 1962.

5. Glansdorf P. and I. Prigogine, *Thermodynamic Theory of Structure, Stability, and Fluctuations*, Wiley-Interscience, New York, 1971.
6. Roubine A. B., *Thermodynamique des processus biologiques*, Editions de l'Université d'Etat de Moscou (Izd MGU), Moscou, 1976 (en russe).
7. Blumenfeld L. A., *Problems of Biological Physics*, Springer, B., Heidelberg, N. Y., 1981.

Chapitre 10

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. I, ch. 1, 3).
2. Bergelson L. D., *Membranes biologiques*, Naouka, Moscou, 1975 (en russe).
3. Policard A., *Cytologie moléculaire des membranes et compartiments de la cellule animale*, Masson, Paris, 1970.
4. Vinnikov Ya. A., *Fondements cytologiques et moléculaires de la réception*, Naouka, Léningrad, 1971 (en russe).
5. Parsons D. S., ed., *Biological Membranes*, Oxford University Press, London, 1975.
6. Véréninov A. A., *Transport des ions à travers les membranes cellulaires*, Naouka, Léningrad, 1978 (en russe).
7. Markine V. S., Tchizmadgev Yu. A., *Transport induit des ions*, Naouka, Moscou, 1974 (en russe).
8. Ovtchinnikov Yu. A., Chkrob A. M., Ivanov V. T., *Complexons à membrane actifs*, Naouka, Moscou, 1974 (en russe).
9. Kotyk A., Janaček K., *Membrane transport*, New York, 1977.

Chapitre 11

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. I, ch. 4).
2. Katz B., *Nerve, Muscle and Synapse*, McGraw-Hill, London, 1966.
3. Hodgkin A. L., *The Conduction of the Nervous Impulse*, University Press, Liverpool, 1964.
4. Khodorov B. I., *Biologie générale des membranes excitables*, Naouka, Moscou, 1975 (en russe).
5. Khodorov B. I., *Problèmes de l'excitabilité*, Meditsina, Léningrad, 1969 (en russe).
6. Tasaki I., *Nerve Excitation. A Macromolecular Approach*, C. Thomas, Springfield, Illinois, 1968.
7. Markine V. S., Pastouchenko V. F., Tchizmadgev Yu. A., *Théorie des milieux excitables*, Naouka, Moscou, 1981 (en russe).

Chapitre 12

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York 1983 (t. I, ch. 5).
2. Bendall J. R., *Muscles, Molecules and Movement. En Essay in the Contraction of Muscles*, Heinemann, Ltd., London, 1969.
3. Katz B., *Nerve, Muscle and Synapse*, McGraw-Hill, London, 1966.
4. Dechtcherevski V. I., *Modèles mathématiques de la contraction musculaire*, Naouka, Moscou, 1977 (en russe).
5. Alexander R. M., *Animal Mechanics*, Sidgewick and Jackson, London, 1968.

Chapitre 13

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. II, ch. 6).
2. Blumenfeld L. A., *Problems of Biological Physics*, Springer, B., Heidelberg, N. Y., 1981.

3. Lehninger A. L., *Biochemistry*, Worth Publishers, Inc., New York, 1971.
4. Skoulatchev V. P., *Transformation de l'énergie dans les biomembranes*, Naouka, Moscou, 1972 (en russe).
5. Skoulatchev V. P., *Accumulation de l'énergie dans la cellule*, Naouka, Moscou, 1969 (en russe).

Chapitre 14

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. II, ch. 7).
2. *Biophysique de la photosynthèse*. Recueil d'articles. Sous la rédaction de A. B. Roubine, Editions de l'Université d'Etat de Moscou (Izd. MGU), Moscou, 1975 (en russe).
3. Tchernavskaïa N. M., Tchernavski D. S., *Transport tunnel des électrons dans la photosynthèse*, Editions de l'Université d'Etat de Moscou (Izd. MGU), Moscou, 1977 (en russe).
4. Blumenfeld L. A., *Problems of Biological Physics*, Springer, B., Heidelberg, N. Y., 1981.
5. Konev S. V., Bolotovski I. A., *Photobiologie*, Editions de l'Université d'Etat de Biélorussie (Izd. BGU), Minsk, 1979 (en russe).

Chapitres 15 et 16

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. II, ch. 8).
2. Glansdorf P. and I. Prigogine, *Thermodynamic Theory of Structure, Stability and Fluctuations*, Wiley-Interscience, New York, 1971.
3. Nicolis G. and I. Prigogine, *Self-Organization in Nonequilibrium Systems*, Wiley, New York, 1977.
4. Andronov A. A., Vitt A. A., Khaïkine S. E., *Théorie des vibrations*, Fizmatguiz, Moscou, 1959 (en russe).
5. Romanovski Yu. M., Stepanova N. V., Tchernavski D. S., *Simulation mathématique dans la biophysique*, Naouka, Moscou, 1975 (en russe).
6. Ivanitski G. R., Krinski V. I., Selkov E. E., *Biophysique mathématique de la cellule*, Naouka, Moscou, 1978 (en russe).
7. Zhabotinski A. M., *Auto-oscillations de concentration*, Naouka, Moscou, 1974 (en russe).
8. Hacken H., *Synergetics*, Springer-Verlag, B., Heidelberg, N. Y., 1978.
9. Ebeling W., *Strukturbildung bei irreversiblen Prozessen*, Teubner, Leipzig, 1976.
10. Volterra V., *Théorie mathématique de la lutte pour la vie*, Gauthier-Villars, Paris, 1931.
11. Roubine A. B., Pytieva N. F., Riznitchenko G. Yu., *Cinétique des processus biologiques*, Editions de l'Université d'Etat de Moscou (Izd. MGU), Moscou, 1977 (en russe).
12. Markine V. S., Pastouchenko V. F., Tchizmadgev Yu. A., *Théorie des milieux excitables*, Naouka, Moscou, 1981 (en russe).

Chapitre 17

1. Volkenshtein M. V., *General Biophysics*, Academic Press, New York, 1983 (t. II, ch. 9).
2. Nicolis G. and I. Prigogine, *Self-Organization in Nonequilibrium Systems*, Wiley, New York, 1977.
3. Oparin A. I., *The Origin of Life on the Earth*, Academic Press, New York, 1957.
4. Bernal J. D., *The Origin of Life*, World Publishing Company, Cleveland, Ohio, 1967.
5. Calvin M., *Chemical Evolution: Molecular Evolution towards the Origin of*

Living Systems on the Earth and Elsewhere, Oxford University Press, Oxford, 1969.
6. Eigen M., *Selforganization of Matter and the Evolution of Biological Macromolecules*, Springer, Berlin, Heidelberg, N. Y., 1971.
7. Eigen M. and R. Winkler, *Das Spiel*, Piper, München, 1975.
8. Eigen M. and P. Schüster, *The Hypercycle. A Principle of Natural Self-Organization*, Springer, Berlin, 1979.
9. Ebeling W., *Strukturbildung bei irreversiblen Prozessen*, Teubner, Leipzig, 1976.
10. Romanovski Yu. M., Stepanova N. V., Tchernavski D. S., *Simulation mathématique en biophysique*, Naouka, Moscou, 1975 (en russe).
11. Schmalhausen I. I., *Problèmes cybernétiques de la biologie*, Naouka, Novossibirsk, 1968 (en russe).
12. Schmalhausen I. I., *Facteurs d'évolution*, Naouka, Moscou, 1968 (en russe); *Factors of Evolution: The Theory of Stabilizing Selection*, Blakiston, Philadelphia, 1949.
13. Schmalhausen I. I., *Problèmes du darwinisme*, Naouka, Moscou, 1969 (en russe).
14. Quastler H., *The Emergence of Biological Organization*, Yale Univ. Press, New Haven, London, 1964.
15. Villee G. and V. G. Dethier, *Biological Principles and Processes*, W. B., Saunders and Co., Philadelphia, 1971.
16. Timofeev-Ressovski N. V., Vorontsov N. N., Yablokov A. V., *Bref aperçu de la théorie de l'évolution*, Naouka, Moscou, 1977 (en russe).
17. Grant V., *Organismic Evolution*, Freeman, San Francisco, 1977.
18. Ebeling W. and R. Feistel, *Physik der Selbstorganisation und Evolution*, Akademie-Verlag, Berlin, 1982.

INDEX DES NOMS

Alexander 617
Alexandrov 127, 128, 345, 616
Amoore 371, 372
Andrééva 142
Andronov 513, 618
Anfinsen 116
Arago 158
Archibald 85
Armstrong 398
Arrhenius 18, 185, 188, 194, 211, 258, 369
Astbury 136
Avery 232
Avogadro 87

Baev 285
Baltimore 278
Barnes 491
Batchinski 601
Bauer 15
Becquerel 171
Beer 151, 160
Bélintsev 531
Bélitser 445
Bélousov 538, 540, 556, 623
Belozerski 39
Bénard 343
Bendall 617
Berestovski 398
Berg 581
Bergelson 349, 617
Bernal 142, 618
Bernstein 375
Bertalanffy 16, 328
Bezanilla 398
Bickford 384
Biltonen 210
Birshtein 111, 615, 616
Blandell 616
Blumenfeld 208, 317, 458, 460, 461, 464, 485, 616, 617, 618
Bohr 10, 162, 183, 225, 230, 231
Bolotovski 618
Boltzmann 28, 57, 71, 180, 185, 186, 314, 316
Borissov A. 484
Borissov V. 142
Born 175
Bouguer 151, 160
Boyle 81
Bragg 138, 142
Braunstein 197, 199
Bresler 615, 616
Brillouin 616
Broglie (de) 147, 209
Brönsted 27
Burke 191
Burnet 592
Butenandt 370
Bütner 561

Calvin 478, 548, 549, 550, 618
Chaitin 607
Chance 461, 546
Changeux 215, 354
Chargaff 39, 234, 242
Chemiakine 367
Cherny 491
Chkrob 617
Chpolski 154
Clapeyron 62
Cohen 398
Condon 210
Cone 499
Corey 32, 95
Cornish-Bowden 616
Coulomb 56
Crick 135, 234, 239, 245, 258, 264, 274, 298, 300, 309, 311
Crothers 261
Curie 323, 336, 527

Dachevski 615
Danielli 348
Darwin 8, 560, 564, 581, 597, 614
Davson 348
Davydov 152, 153
Debye 28, 29, 87, 145
Dechtcherevski 424, 428, 617
Delbrück 11
De Robertis 400
Dethier 615
Dibrov 593
Dickerson 466
Dogonadzé 208, 466
Donnan 358, 455
Doppler 149
Doty 106
Drude 166, 167
Duysens 475

Ebeling 531, 580, 618, 619
Edelman 130, 374
Edman 418

Ehrenfest P. 568 à 570
Ehrenfest T. 568 à 570
Eigen 220, 285, 306, 564 à 566, 568, 569, 571, 572, 574, 575, 578 à 580, 619
Einstein 316, 499
Eliachévitch 175
Elsasser 11
Emerson 472, 474
Engelhardt 407, 409, 497
Epimenides 608
Ermichkine 398
Eroussalimski 615
Eskin 615
Essipova 142
Evdokimov 258
Eyring 186 à 188, 426, 461

Fabre 370
Faraday 170, 174, 175, 356
Fasman 616
Feistel 580, 619
Fenn 420
Féofilov 155
Fermat 15
Fessenko 373
Fick 86, 321
Finkelstein 118
Fischer E. 202
Fischer H. F. 114
Florentiev 283
Flory 81, 88, 100, 615, 616
Fong 256, 258
Fourier 183
Fowler 77
Fox 563, 564
Franck 210, 430
Frank-Kamenetski 249, 251
Franklin 234
Frenkel S. 615
Frenkel Ya. 152
Fresnel 158
Frobenius 78

Gamow 273
Gavrilova 292, 616
Géorgiev 309, 310
Gibbs 316, 320
Gilbert 608
Glansdorf 617, 618
Gödel 608
Goldstein 220
Gottikh 306
Gourfinkel 441
Gourski 261, 263, 306
Gourvitch 158
Grant 619
Green 448, 460
Gribov 175
Grossberg 82
Gurdon 585

Haken 616, 618
Haldane 231, 561
Hamilton 15
Hanson 410
Hartline 376
Hecht 491
Heisenberg 10
Helmholtz 8, 9, 316, 375, 488
Hess 546
Hill 224, 225, 230, 231, 418 à 420, 424, 470, 472, 479
Hille 398
Hochachka 615
Hodgkin A. 359, 360, 375, 386 à 388, 390, 393, 397, 399, 554, 617
Hodgkin D. 142
Holley 284
Hooke 71, 79
Hooker 560
Hückel 28, 29
Huxley A. 375, 386 à 388, 390, 393, 397, 399, 423, 554
Huxley H. 410

Ičas 296
Ingram 616
Ising 77, 108, 118, 248
Ivanitski 554, 618
Ivanov V. I. 367, 617
Ivanov V. T. 199, 283

Jacob 305, 307, 590, 591
Jencks 616
Ji 460
Johnson 616
Jortner 466
Joule 9

Karpeïski 199
Katchalski 335, 344, 407
Katz 359, 360, 375, 617
Kauzmann 616
Kendrew 122, 142
Kerr 88
Keynes 398
Khaïkine 618
Khessine 307, 612
Khodorov 617
Khokhlov 81, 82
Khorana 39, 294
Kimura 121, 606
Kisselev 616
Kitaïgorodski 66
Klug 309
Kock 475
Kohlrausch 68
Kolmogorov 607
Koltsov 278
Kompaneyets 390
Konev 618
Kopun 301
Kornberg 263, 266
Koshland 202, 203, 204
Kounosu 428
Kouznetsov 466
Kramers 77, 163
Krasnovski 470, 471
Krebs 55, 443, 444, 445, 450, 572
Krinski 554, 556, 558, 618
Kronig 163
Kuhn H. 574, 577, 578
Kuhn W. 71, 164, 165, 256

Lagrange 15, 315, 331
Lambert 151, 160
Landau 64, 248
Landsberg 175

Landsteiner 130
Langmuir 113, 191, 224, 267
Laplace 536
Larmor 171
Laue 139, 145
Lavenda 589
Lavoisier 442
Lazourkine 249, 251, 254, 258
Le Chatelier 15
Lefever 522
Lehninger 445, 451, 615, 618
Lennard-Jones 66
Lenz 15
Léonard de Vinci 441
Lerman 262
Liapounov 15, 512
Liberman 456, 457
Lifchitz 80, 82, 248
Likhtenstein 616
Lillie 386
Lim 116
Linderström-Lang 129
Lineweaver 191
Linné 8, 610
Lioubimova 407, 409
Livchits 593
Lohman 416
Lomonossov 487, 488
London 58, 59
Longuet-Higgins 256
Lorentz 161, 166
Lorenz 161
Lotka 516, 517, 519, 521, 522, 524, 534, 542, 547, 623
Lumry 194, 210

MacLeod 232
Makarov A. 142
Makarov V. 170
Mandelstam 175, 513, 608
Maniloff 266
Markine 366, 386, 390, 552, 617, 618
Markov 506, 584
Marmur 259
Martinez 589
Martin-Löf 607
Massey 258
Matthaei 293
Maxwell 8, 87, 186, 429, 488, 529
Mayer 9
Mayr 581
McCarthy 232
McClare 421
McClellan 616
Mendel 614
Menten 190, 192, 213, 214, 218, 468
Meselson 263
Michaelis 190 à 192, 213, 214, 218, 468
Mie 87
Miller 139, 561, 562
Mitchell 452 à 454, 456 à 458, 464, 482, 484, 497, 500
Moffitt 152, 166 à 168
Moltchanov 537
Moncrieff 371
Monod 215, 305, 307, 354, 590, 591
Mössbauer 148, 149, 221, 229, 496
Moukhin 563

Nassonov 127
Natanson 403
Nernst 358, 455
Nerve 617
Newton 15, 423
Nicolis 522, 618
Nikiforov 616
Nirenberg 293, 294, 296
Nomura 289

Oesterhelt 500
Oka 73
Okazaki 269
Onsager 321, 327, 329, 332, 339
Oosawa 428
Oparin 564, 618
Oplatka 407, 421
Oppenheimer 175
Orgel 311
Oster 335
Ostrovski 497
Ovtchinnikov 367, 617

Pacini 434, 439
Parkinson 403
Parsons 617
Pasetchnik 438
Pasteur 44
Pastouchenko 366, 617, 618
Pauling 32, 95, 133
Perrin 155
Perutz 122, 142, 205, 206, 225, 227, 228
Phillips 197
Pimentel 616
Planck 148, 161, 187, 427
Podolski 418
Poincaré 511
Poisson 401, 402, 534
Polétaev 170
Policard 617
Pressman 131, 133, 367
Prigogine 16, 329, 331, 339, 522, 575, 617, 618
Privalov 125, 253
Ptitsyn 116, 118, 615, 616
Pytieva 618

Quastler 317, 619

Rabin 219
Ramachandran 97, 98, 135
Raman 20, 68, 175, 176, 178
Ranvier 376, 384
Rich 135, 238, 287
Riznitchenko 618
Romanovski 618, 619
Rosenblueth 555
Rosenfeld 161
Roubine 617, 618
Rumer 297
Rutter 585

Sanger 284
Scatchard 261
Scherrer 145
Schiff 197, 500 à 502
Schlögl 528
Schmalhausen 598, 619
Schrödinger 10, 11, 17, 233, 239, 338, 600, 608, 615

Schuster 574, 575
Schwann 375, 376
Selkov 546, 547, 618
Sendov 309
Shannon 314, 599
Shoenberg 418
Skoulatchev 457, 497, 618
Slater 452
Somero 615
Soret 223
Spiegelman 574
Spirin 291, 292, 616
Stahl F. 263
Stahl G. E. 9
Stépanov 175
Stépanova 618, 619
Sternberg 131
Stockenius 500
Svedberg 289
Szent-Györgyi 421

Tanford 114, 125, 615
Tasaki 375, 398, 617
Tawada 428
Tchaïkovski 531
Tchernavskaïa 462, 501, 502, 578, 579, 618
Tchernavski 208, 461, 462, 464, 485, 501, 502, 531, 549, 578, 579, 618, 619
Tchernigovski 434
Tchizmadgev 366, 390, 617, 618
Teilhard de Chardin 581
Temine 278
Teorell 552
Térénine 471, 562
Thom 514
Timasheff 616
Timiriazev 468
Timoféev-Ressovski 11, 609, 619
Tinoco 285
Tolstoï L. 609
Tonomura 421
Toumanian 135
Träuble 353
Tsanev 309
Tsvetkov 615
Tsybakova 445
Turing 524, 588, 589

Ulstrup 466
Umbarger 217
Urey 561

Vainshtein 142, 616
Vallee 213
Van der Waals 59, 65, 66, 98, 101, 112, 133, 226, 246, 529
Vannier 77
Van't Hoff 83
Varchavski 258
Vassiliev 288
Vavilov 155, 491
Vazina 430
Venkstern 497
Verdet 171
Véréninov 617
Verhulst 521
Villee 615, 619
Vinnikov 617
Vitt 618
Vogel 301
Voigt 429
Volkenstein 72, 77, 175, 208, 220, 424, 531, 593, 615 à 618
Volterra 516, 517, 519, 524, 534, 537, 542, 595, 618, 623
Von Bekesy 437
Von Neumann 606
Vorontsov 619
Vrba 613

Waddington 331, 535, 587
Wald 491, 494
Watson 234, 239, 245, 258, 264, 274, 300, 616
Weissmann 574
Wessels 585
Wiener 555
Wigner 11, 568
Wilkins 234
Winfield 466
Winkler 619
Witt 343, 483, 484
Wittmann 277
Wöhler 22
Wolpert 588
Wyman 215, 230, 354

Yablokov 619
Young 488

Zaïkine 543, 545
Zassedatelev 261
Zavoïski 179
Zeeman 171, 179
Zhabotinski 538, 540, 543, 545, 556, 618, 623
Zimm 87, 256, 258

INDEX DES MATIÈRES

Acétylcholine 399 à 402
Acétylcholine-estérase 400, 401
Actine 410, 412, 432 à 435
Actinine 412
Activité 28, 29
— moléculaire 195
— optique induite 169
— — latente 170
Adhésion des cellules 374
Affinité 320, 324 à 333, 406
Aldimine 197, 500
Allostérie 92, 218, 219, 230, 589
Amidon 46, 54, 550
Anticodon 279, 286, 297
Anticorps 129
Apoenzyme 48
Aspartate-aminotransférase 142, 169, 197, 212
Aspartate-transcarbamylase 213
Atmosphère ionique 28
ATP-ase 361, 363, 409, 416, 497
Auto-assemblage 111, 116, etc.
Auto-organisation des macromolécules 564, etc.
Auto-oscillations 430, 514, 537, etc.

Bifurcation 514
Biologie moléculaire 22, 232, 233, etc.
Bionique 441
Biopotentiels 342, 376
Blastes 592
Bombycol 370
Boucles 243
Bruxellateur 522 à 524, 542

Canaux 348, 366, 386, 388, 396 à 399
Cancérogénèse 233
Carboxypeptidase 204
Carotène 49, 150, 469, 475, 481, 482, 491
Carriers 338, 360, 368
Carte épigénétique 587
Centre 510, 512, 514
Chaîne(s) de Markov 506, 584
— de transport d'électrons 443 à 446, 450, 452, 461, 485
Champ biologique 9, 587
Chimie biominérale 22, 213
— bio-organique 22
— quantique 56
Chimiluminescence 158
Chiralité 42 à 46, 577

Chlorophylle 50, 468, etc.
Chloroplastes 346, 442, 470, etc.
Chromatine 308
Chromatographie 32
Chromosomes 233, 299, 586
Chronaxie 380
« Chute rouge » 472, 473
Chymotrypsine 204
Cils vibratiles 370, 431, 432
Clathrates 113
Coacervats 564, 580
Codon 276, 277, 293 à 299, 601, 603
Coefficient(s) d'activité 28, 29
— phénoménologiques 321, 323, etc.
— de sédimentation 84
Coenzyme 48, 197, 200
Col 512, 513
Colicines 353
Collagène 134, 135, 143
Compartimentation 23, 342, 515, 563, 564, 574, 580
Cônes 488 à 490
Configuration 69
Conformon 212, 355, 459, 462, 463
Constante de Michaelis 190, 191
Contraction isométrique 417
— isotonique 417
Convergence 583
Coopérativité 77, 107, 213 à 217, 353, 354, 364, 402, 408, 553
Corpuscule de Pacini 434
Couplage indirect 334 à 338
Courant de gate 397, 398
Créode 587
Crêtes 448 à 450
Cristal apériodique 11, 116, 338, 600
Cristaux liquides 346, 413, 422, 423
Cycle(s) de Calvin 478, 548 à 550
— de Krebs 54, 443, 444, 572
— limite 515
— mécanochimiques 405, 406
Cytochrome c 34, 50, 121, 213, 456, 464 à 466, 605
Cyto-éthologie 345

Décomposition excitonique 167
Découpleurs 451
Dénaturation des acides nucléiques 247, 265, 266
— des protéines 93, 124 à 129, 142, 157
Déplacements chimiques 181
Diagramme(s) de Debye-Scherrer 145
— de Laue 139

Dichroïsme 177, 498, 499
— circulaire 158, 163, 165 à 170
Différenciation 589 etc.
Diffractométrie neutronique 147, 148
Diffusion de la lumière 20, 86, 87
— Raman 175, 176, 178
— des rayons X 20, 138 à 147
Dislocations 369
Dogme central 278
Domaines 117, etc., 130, 146
Dynamique du génome 611

Eau 103 à 105
Echange de deutérons 122
Echos 543, 558
Effet(s) de Bohr 225, 230
— de catalyse acidobasique 201
— de contact induit 202
— Cotton 163
— Faraday 170, etc.
— de Fenn 420
— Kerr 88
— de Maxwell 87
— Mie 87
— Mössbauer 148, 149, 221, 229
— d'orientation 201
— de polarisation 202
— de proximité 201
— tunnel 460 à 463
— de volume 81
Elastine 440
Electrophorèse 90
Ellipticité 160
Enantiomères 42
Equation cinétique principale 532 à 534
— de Hill (hémoglobine) 224
— — (muscle) 418, 421, 423, 425
— de Hodgkin-Huxley 390, 554
— de Michaelis-Menten 190
— de Nernst 358
— de Van der Waals 529
Equilibre de Donnan 358
« Estrapade » 207
Etranglements (nœuds) de Ranvier 376, 384, 385
EXAFS 147
Exciton 152
Extinction de la luminescence 156

Facteur de qualité 565
Fibrillation 556 à 559
Fibroïne 137
Flagelles 370, 431, 432
Flexibilité cinétique 76
— thermodynamique 72
Fluctuations quantiques 491
Flux généralisés 319
Fonction de dissipation 320, etc.
Force(s) dipolaire 152
— de dispersion 58, 59
— généralisées 319
— d'induction 57
— ionique 29
— d'orientation 56
— d'oscillateur 151
— rotationnelle 162
Forme β 95 à 97
Formule d'Arrhenius 18, **188**, **369**
— de Becquerel 171
— de Bragg 138
— de Drude 166, 167
— d'Eyring 187, 426
Formule — de Hodgkin-Katz 360, 382
— de Lorentz-Lorenz 161
— de Moffitt 166, 167
— de Perrin 155
— de Shannon 314, 599
Foyer 510 à 514
Frame shift mutations 276, 300
Frottement interne 426

Génie génétique 284
Glycolyse 53, 545 à 549, 561
Graphes 192, 220, 340

Halo amorphe 145
Halobactéries 500
Haptènes 131, 132
Hélice α 95
Hème 50, 221 à 231, 465
Hémoglobine 35, 50, 87, 121 à 123, 148, 169, 175, 213, 220 à 231
Histones 121, 308, 309
Holoenzyme 48
Homéorhèse 331, 535
Homéostase 331, 535
Horloge biologique 537
Hormones 92, 585, 587
Hypochromisme 152, 153, 242, 243, 247

Immunité 129 à 134, 373, 592 à 597
Indices de Miller 139
Information de position 586
Inhibition 192
Instabilité de Bénard 339
Interaction(s) électrono-conformationnelles 127, 209 à 213, 225, 229 à 231, 364, 459 à 465
— hème-hème 221, etc.
— hydrophobes 59, etc.
— ion-dipôle 56
— verticales 245, 246
Introns 310
Ion bipolaire 24
Ionites 90
Ionophores 367
Isoclines 508
Isotherme de Langmuir 191, 224, 267

Kératines 134, 136, 137
« Kinks » 353, 396

Lac opéron 306
Lamelles 478
Laser 338, 528
Liaison hydrogène 59, 94, 148
— ionique 56
— peptidique 26, 32, 94
Lipides 46 à 48, 343 à 353, 366
Loi de Bouguer, Lambert, Beer 151, 160
— de Vavilov 155
Longueur persistante 80, 240, 244
Lymphocytes 592, etc.
Lysozyme 143, 197, 198, 204 à 206

Macroévolution 613, 614
Magnétobiologie 223
Mécanoréception 431, 434

Meiose 431, 433
Mémoire immunologique 129, 593
— linéaire 80
Métallo-enzymes 212
Méthode cinétique au formaldéhyde 258, 259
Microcalorimétrie 122, 250, 253
Microévolution 613, 614
Microscopie électronique 20, 344
Migration de l'énergie 156, 158
Mitochondries 278, 342, 442, etc.
Mitose 431, 433
Modèle « clé-serrure « 202
— glissant du muscle 414, 421
— intercalaire 262
— d'Ising 77, 108, 118
— de Kuhn 164
— de Lillie 386
— de Maxwell 429
— de Monod, Wyman, Changeux 215 à 217, 354
— monoélectronique 165
— de la mosaïque fluide 345
— « prédateur-proie » 516 à 522, 534
— unitaire de la membrane 344, 345
— de Voigt 429
Moment dipolaire magnétique de transition 161
— — de transition 151
Morphogénèse 373, 374, 524, 543, 585, etc.
Mouvement du protoplasme 431
Multiplication des gènes 612
Muscles 343, 409, etc.
— de vol des insectes 429
Mutagénèse 11, 245
Mutations chromosomiques 300
— silencieuses 299, 300
Myéline 375, 376, 384, 385
Myoglobine 50, 119, 122, 141 à 145, 148, 213, 220 à 231
Myosine 134, 408, 411, 412, 432 à 435
Myxomycètes 432, 587

Neurone 375, 376
Nitrogénase 51, 147
Nœud 511 à 514
Nomogénèse 581
Nucléosomes 308, 309

Odeur 371 à 373
Odorat 370 à 373
Ommatidies 489
Ondes de concentration 527, 535
Ontogénèse 233, 339, 524, 585 à 592, 604
Opéron 305 à 307, 591
Opsine 492
« Orégonateur » 541
Oscillateur membranaire 552
Osmométrie 82

Paracristaux 144
Particules submitochondriales 175, 448, 460
Phospholipides 48
Phosphorylation oxydative 54, 55, 346, 445, 447
Photodichroïsme 498
Photodissociation 561
Photogénérateur 497
Photosenseur 497
Photosynthèse 20, 54, 346, 442, 467 à 486, 561
Phylogénèse 343, 580, etc.
Pile à combustible 454
Plastoquinones 477
Point isoélectrique 29
— Θ 81
Polarisabilité 161
Polarisation de la luminescence 154 à 156
Polaron 212
Polycondensation 26, 62
Polymérases 51, 282, 283
Polymérisation 61
Polysome 280
Pompe à protons 455, 497, 500
— à sodium 361 à 363
Porphyrines 221
Portrait de phase 507, etc.
Potentiel d'action 376, 380, 383, 385, 389, 392
— électrochimique 356
— de Lennard-Jones 66, 67
— d'oxydoréduction 445
— de repos 380, 383, 390
Précession de Larmor 171, 179
Principe de complémentarité 10
— de Curie 323, 334
— de Fermat 15
— de Hamilton 15
— de Le Chatelier 15
Processing 310
Processus auto-ondulatoires 538, etc.
— stochastiques 506, 532 à 534, 584
Protéase 32
Proténoïdes 563, 575
Pyridoxalphosphate 169, 197, 199, 200

Radicaux libres 183
Rasoir Ockham 608
Rayonnement synchrotron 147, 430
Rayons mitogénétiques 158
Réaction autocatalytique 338, 522 à 527, 529 à 531
— de Hill 470, 472, 480
— de Krasnovski 470
— de Lohman 416
Récapitulation 583, 604
Réception gustative 373
Reconnaissance moléculaire 115, 280, 354, etc.
Redondance 599, etc.
Réfractivité 380, 556, 557
Règle de Chargaff 39, 242
Relaxation chimique 220
— spin-réseau 180
— spin-spin 181
Renaturation 116, 259
Rendement quantique 472, 474
Résiline 440
Restriction 284
Rétinal 492 à 494
Rétine 487, 488
Rétinol 491, 492
Réverbérateurs 544, 556 à 559
Rhéobase 379
Rhodopsine 344, 347, 354, 492, etc.
Ribosomes 233, 289 à 292
Rotation magnétique 20, 170 à 175, 229, 230
Rythmes circadiens 538

Sarcomère 409
Schéma optico-valentiel 175
Scission de Davydov 152, 153

Sédimentation 20, 83 à 86
Séparatrices 512
Soliton 421
Solutions tampons 31
Spacers 310
Spectre d'action 472
Spike 376
Strates 143
Synapse 375
Synergétique 339
Synthèse induite d'enzymes 305
Système(s) congruent 199
— dissipatifs 339 à 343
— distribués 515, 524
— grossiers et non grossiers 513, 515

Tautomérie 36
Texture 143
Théorème de Born et Oppenheimer 175
— de Gödel 608
— de Landau et Lifchitz 248
— d'Onsager 321, 329, 339
— de Prigogine 329, 331, 339, 504
Théorie des catastrophes 514
— cinétique du caoutchouc 71
— de la commande 487
— de Debye-Hückel 28
— de Hodgkin et Huxley 386 à 390
— de Mitchell 452 à 459, 482, 500
— neutraliste 121, 606
— sélective ou clonale 592
— des systèmes 535
— des vitesses absolues de réactions 186 à 188, 424

Thermodiffusion 322
Thermodynamique des réseaux 344
Thylacoïdes 479, 481
Tore d'ADN 244
Traduction 280, etc.
Transcriptase inverse 283
Transcription 278
— inverse 278
Transcripton 310, 311
Transduction 612
Transformation des bactéries 232
Transitions 302
— conformationnelles par relaxation 460
— hélice-pelote 105 à 111, 246 à 259, 409
— pelote-globule 82
— de phase 77, 82, 338, 353, 354, 555, 585, 586, 592
Transport facilité 338, 360
Transversions 302
Tropomyosine 412, 416
Troponine 412, 416

Ultrason 124
Unité photosynthétique 468

Valeur de l'information 572, 598, etc.
— sélective 566, 572
Valinomycine 368, 369
Viscosimétrie 83
Viscosité 83, 89
Vitalisme 9

TABLE DES MATIÈRES

Préface 5

Chapitre premier. BUTS ET MÉTHODES DE LA BIOPHYSIQUE

§ 1.1. Situation de la biophysique parmi les sciences naturelles . . . 7
§ 1.2. Physique et biologie 9
§ 1.3. Matière vivante et matière inanimée 12
§ 1.4. Individualité biologique 13
§ 1.5. Finalisme et causalité 14
§ 1.6. Propriétés des systèmes ouverts 15
§ 1.7. Domaines et méthodes de la biophysique 19

Chapitre 2. FONDEMENTS CHIMIQUES DE LA BIOPHYSIQUE . . 22

§ 2.1. Chimie et biologie 22
§ 2.2. Acides aminés 24
§ 2.3. Electrolytes 27
§ 2.4. Composition et structure primaire des protéines 31
§ 2.5. Acides nucléiques 35
§ 2.6. Adénylates 40
§ 2.7. Chiralité des molécules biologiques . . 42
§ 2.8. Glucides et lipides 46
§ 2.9. Cofacteurs, vitamines, hormones 48
§ 2.10. Principaux processus biochimiques . . . 53
§ 2.11. Interactions fortes et faibles 55

Chapitre 3. PHYSIQUE DES MACROMOLÉCULES 61

§ 3.1. Macromolécules et haute élasticité 61
§ 3.2. Rotation interne et isomérie de rotation 64
§ 3.3. Isomérie de rotation et théorie des macromolécules 69
§ 3.4. Macromolécule comme un système coopératif 76
§ 3.5. Pelote et globule 80
§ 3.6. Méthodes d'étude des macromolécules 82
§ 3.7. Polyélectrolytes 88

Chapitre 4. PHYSIQUE DES PROTÉINES . . 92

§ 4.1. Tâches de la physique des protéines 92
§ 4.2. Conformations de la chaîne polypeptidique 94
§ 4.3. Liaison hydrogène et structure de l'eau 100
§ 4.4. Transitions hélice-pelote 105
§ 4.5. Globule protéique et interactions hydrophobes 111

§ 4.6. Relation entre la structure primaire et la structure spatiale des protéines 115
§ 4.7. Structure et stabilité du globule 121
§ 4.8. Anticorps et antigènes 129
§ 4.9. Protéines fibrillaires 134

Chapitre 5. MÉTHODES D'ÉTUDE DE LA STRUCTURE DES BIOPOLYMÈRES 138

§ 5.1. Radiocristallographie 138
§ 5.2. Dispersion diffuse des rayons X par les solutions de biopolymères 145
§ 5.3. Méthodes de la physique nucléaire 147
§ 5.4. Spectres d'absorption électroniques 149
§ 5.5. Luminescence 154
§ 5.6. Activité optique naturelle 158
§ 5.7. Activité optique naturelle des biopolymères 165
§ 5.8. Activité optique magnétique 170
§ 5.9. Spectres de vibration 175
§ 5.10. Spectres de résonance magnétique nucléaire et de résonance paramagnétique électronique 179

Chapitre 6. PHYSIQUE DES ENZYMES 185

§ 6.1. Cinétique chimique et catalyse 185
§ 6.2. Cinétique des réactions enzymatiques simples 189
§ 6.3. Aspects chimiques de l'action des enzymes . 195
§ 6.4. Propriétés conformationnelles des enzymes . . 202
§ 6.5. Physique de l'interaction enzyme-substrat 206
§ 6.6. Interactions électrono-conformationnelles . 209
§ 6.7. Propriétés coopératives des enzymes 213
§ 6.8. Myoglobine et hémoglobine 220

Chapitre 7. PHYSIQUE DES ACIDES NUCLÉIQUES 232

§ 7.1. Biologie moléculaire et physique 232
§ 7.2. Structure des acides nucléiques 234
§ 7.3. Interactions intramoléculaires dans la double hélice 244
§ 7.4. Thermodynamique de la fusion de la double hélice 247
§ 7.5. Cinétique du déroulement de la double hélice 256
§ 7.6. Interaction de la double hélice avec les petites molécules et les ions 260
§ 7.7. Réplication des ADN 263
§ 7.8. Topologie des ADN 269

Chapitre 8. PHYSIQUE DE LA BIOSYNTHÈSE DES PROTÉINES 273

§ 8.1. Problème du code génétique 273
§ 8.2. Biosynthèse des protéines 278
§ 8.3. Transcription directe et inverse 282
§ 8.4. ARN de transfert 284
§ 8.5. Traduction 287
§ 8.6. Déchiffrement du code génétique et son sens 293
§ 8.7. Mutations 299
§ 8.8. Régulation des gènes 305

Chapitre 9. THERMODYNAMIQUE DU NON-ÉQUILIBRE EN BIOLOGIE 313

§ 9.1. Information et entropie 313
§ 9.2. Processus hors d'équilibre 318

§ 9.3. Couplage des flux 321
§ 9.4. Couplage des réactions chimiques 324
§ 9.5. Etats stationnaires des systèmes linéaires 328
§ 9.6. Couplage entre les réactions chimiques et le transport de matière 333
§ 9.7. Processus éloignés de l'équilibre 338

Chapitre 10. PHYSIQUE DES MEMBRANES . . . 345

§ 10.1. Membranes de la cellule 345
§ 10.2. Structure des membranes 347
§ 10.3. Propriétés conformationnelles des membranes 350
§ 10.4. Transport membranaire passif 355
§ 10.5. Transport membranaire actif 360
§ 10.6. Transport des particules chargées à travers les membranes . . . 366
§ 10.7. Réception moléculaire 370

Chapitre 11. PHYSIQUE DE L'INFLUX NERVEUX 375

§ 11.1 Axone et influx nerveux 375
§ 11.2. Propagation de l'influx nerveux 386
§ 11.3. Génération de l'influx 392
§ 11.4. Canaux ioniques 396
§ 11.5. Transmission synaptique 399

Chapitre 12. PROCESSUS MÉCANOCHIMIQUES 404

§ 12.1. Thermodynamique des processus mécanochimiques 404
§ 12.2 Structure du muscle et des protéines musculaires 409
§ 12.3. Chimie et physique du muscle 415
§ 12.4. Théorie de la contraction musculaire . . 421
§ 12.5. Propriétés cinétiques du muscle 429
§ 12.6. Systèmes mécanochimiques 431
§ 12.7. Réception auditive 435
§ 12.8. Biomécanique 439

Chapitre 13. BIOÉNERGÉTIQUE DE LA CHAÎNE RESPIRATOIRE 442

§ 13.1. Oxydation biologique 442
§ 13.2. Structure et propriétés des mitochondries 448
§ 13.3 Couplage chimiosmotique 452
§ 13.4. Interactions électrono-conformationnelles . 459
§ 13.5. Cytochrome *c* 464

Chapitre 14. PHÉNOMÈNES PHOTOBIOLOGIQUES 467

§ 14.1. Photosynthèse 467
§ 14.2. Deux systèmes photochimiques 473
§ 14.3. Chloroplastes 478
§ 14.4. Mécanisme de la photosynthèse 482
§ 14.5. Vision 486
§ 14.6. Mécanisme moléculaire de la photoréception . . . 491
§ 14.7. Bactériorhodopsine 500

Chapitre 15. SIMULATION DES PROCESSUS BIOLOGIQUES DINAMIQUES 503

§ 15.1. Ordre dynamique 503
§ 15.2. Principes physico-mathématiques de la dynamique des processus non linéaires 506

§ 15.3. Modèles de Lotka et de Volterra 516
§ 15.4. Systèmes autocatalytiques . . . 522
§ 15.5. Transitions de phase 527
§ 15.6. Processus stochastiques . . . 532
§ 15.7. Dynamique et régulation . . . 534

Chapitre 16. PROCESSUS PÉRIODIQUES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES 537

§ 16.1. Introduction 537
§ 16.2. Réactions de Bélousov-Zhabotinski 538
§ 16.3. Auto-oscillations au cours de la glycolyse . . 545
§ 16.4. Auto-oscillations dans la photosynthèse . 548
§ 16.5. Dynamique non linéaire des membranes . . . 551
§ 16.6. Processus auto-ondulatoires dans le myocarde . . 555

Chapitre 17. PROBLÈMES DU DÉVELOPPEMENT BIOLOGIQUE 560

§ 17.1. Origine de la vie 560
§ 17.2. Simulation de l'évolution prébiologique 564
§ 17.3. Modèles de jeux et aspects informationnels de l'auto-organisation 568
§ 17.4. Hypercycles 571
§ 17.5. Autres modèles de l'évolution prébiologique 575
§ 17.6. Evolution biologique 580
§ 17.7. Ontogénèse 585
§ 17.8. Immunité 592
§ 17.9. Développement biologique et théorie de l'information 597
§ 17.10. Complexité et évolution 606

Bibliographie 615
Index des noms 620
Index des matières . 624